

# VNIVERSITAT E VALÈNCIA



*Valoración de los parámetros geométricos del menisco lagrimal mediante tomografía de coherencia óptica, y su aplicación en el diagnóstico diferencial de ojo seco.*

## **PROGRAMA DE DOCTORADO EN OPTOMETRÍA Y CIENCIAS DE LA VISIÓN**

Doctorando: Jaime Antonio Guerra Aparicio

Directores de Tesis: Dr. Santiago García Lázaro

Dr. Andrés Gené Sampedro

**DEPARTAMENTO DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA Y CIENCIAS DE LA VISIÓN  
FACULTAD DE FÍSICA  
UNIVERSIDAD DE VALENCIA**

Valencia, noviembre 2022



# VNIVERSITAT E VALÈNCIA

*Valoración de los parámetros geométricos del menisco lagrimal mediante tomografía de coherencia óptica, y su aplicación en el diagnóstico diferencial de ojo seco.*

**Jaime Antonio Guerra Aparicio**

Memoria presentada para aspirar al grado de  
**DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE VALENCIA**

**DOCTORADO EN OPTOMETRÍA Y CIENCIAS DE LA VISIÓN**

Dirigida por:  
Dr. Santiago García Lázaro  
Dr. Andrés Gené Sampedro





Dr. Santiago García Lázaro, Profesor Titular de la Universitat de València.

Dr. Andrés Gené Sampedro, Profesor Titular de la Universitat de València.

CERTIFICAN: que la presente memoria “**Valoración de los parámetros geométricos del menisco lagrimal mediante tomografía de coherencia óptica, y su aplicación en el diagnóstico diferencial de ojo seco**”, resume el trabajo de investigación realizado, bajo su dirección, por D. Jaime Antonio Guerra Aparicio y constituye su Tesis Doctoral para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste, y en cumplimiento de la legislación vigente, firman el presente certificado en Valencia, a día 22 de noviembre de dos mil veintidós.

Fdo: Dr. Santiago García Lázaro

Fdo: Dr. Andrés Gené Sampedro



## Agradecimientos:

Pueden contarse por miles las horas de esfuerzo invertidas, quizás tardías en mi vida, pero siempre rentables.

En lo espiritual, cumplo la promesa que te hice cuando falleciste Papá, la pena que me corroe es que no estés aquí físicamente para poder disfrutarlo contigo, aunque sé que desde arriba me estás viendo orgulloso junto a nuestra Virgen de la Piedad. Gracias por darme la Fe para conseguirlo.

En lo humano, sirva este ejemplo de trabajo y compromiso a mis hijos, a los que junto a mi amada mujer les pido disculpas por el tiempo que les he quitado. Gracias por darme parte de vuestra felicidad para lograrlo.

En lo profesional, un inmenso orgullo poder culminar este hito académico, ha merecido la pena. Gracias a la Universidad de Valencia y a mis tutores, Santiago y Andrés, por confiar en mí.



## Lista de Acrónimos

- A:** altura de la cara externa del menisco lagrimal obtenida a través del método LIMA
- ADDE:** ojo seco por falta de secreción acuosa (del inglés, *Aqueous Deficient Dry Eye*)
- AS-OCT:** OCT de polo anterior (del inglés, *Anterior Segment Optical Coherence Tomography*)
- ATD:** ojo seco por falta de secreción acuosa (del inglés, *Aqueous Tear Deficiency*). Acrónimo también usado como equivalente a ADDE.
- B:** profundidad del menisco lagrimal obtenida a través del método LIMA
- C:** altura corneal del menisco lagrimal obtenida a través del método LIMA
- CCI:** coeficiente de correlación intraclase
- CMGD:** disfunción cicatricial de las glándulas de Meibomio (del inglés, *Cicatricial Meibomian Gland Disease*)
- CV:** coeficiente de variación
- DE:** desviación estándar
- DED:** enfermedad de ojo seco (del inglés, *Dry Eye Disease*)
- DEWS:** taller internacional sobre ojo seco (en inglés, *Dry Eye WorkShop*), organizado por la TFOS y publicado en 2007
- DEWS II:** taller internacional sobre ojo seco (en inglés, *Dry Eye WorkShop*), organizado por la TFOS y publicado en 2017
- EDE:** ojo seco evaporativo (del inglés, *Evaporative Dry Eye*)
- FBUT:** tiempo de ruptura lagrimal mediante tinción con fluoresceína (del inglés, *Fluorescein Break-Up Time*)
- FD-OCT:** OCT de dominio de Fourier (del inglés, *Fourier-domain Optical Coherence Tomography*)
- IC:** intervalo de confianza
- IVCM:** microscopía confocal en vivo (del inglés, *In Vivo Confocal Microscopy*)
- L:** ságita formada por la cara externa del menisco lagrimal obtenida a través del método LIMA
- LIMA:** método propuesto para medir el área de la sección transversal del menisco lagrimal inferior (del inglés, *Lacrimal Inferior Meniscus Area*)
- LIPCOF:** pliegues conjuntivales paralelos al borde del párpado (del inglés, *Lid-Parallel Conjunctival Folds*)
- MGD:** disfunción de las glándulas de Meibomio (del inglés, *Meibomian Gland Dysfunction*)

**MGDW:** taller internacional sobre la disfunción de las glándulas de Meibomio (en inglés, *Meibomian Gland Dysfunction Workshop*), organizado por la TFOS y publicado en 2011.

**MGL:** factor de pérdida de glándulas de Meibomio. Prueba para analizar porcentualmente la extensión de la pérdida de las glándulas de Meibomio a través de Meibografía infrarroja (del inglés, *Meibomian Gland Loss*)

**MGs:** glándulas de Meibomio

**NA:** no aportado

**OCT:** tomografía de coherencia óptica (del inglés, *Optical Coherence Tomography*)

**OSD:** enfermedad de la superficie ocular (del inglés, *Ocular Surface Disease*)

**OSDI:** índice obtenido del cuestionario sobre síntomas de ojo seco (del inglés, *Ocular Surface Disease Index*©, Allergan Inc., Irvine, CA, EE.UU)

**R:** radio de curvatura del menisco lagrimal obtenido a través del método LIMA

**RIQ:** rango intercuartílico

**SMGD:** disfunción simple de las glándulas de Meibomio (del inglés, *Simplex Meibomian Gland Dysfunction*)

**SPK:** queratopatía punteada superficial (del inglés, *Superficial Punctate Keratopathy*)

**SS:** síndrome de Sjögren (del inglés, *Sjögren Syndrome*)

**SS-OCT:** OCT de tecnología tridimensional (del inglés, *Swept Source Optical Coherence Tomography*)

**TBUT:** tiempo de ruptura lagrimal (del inglés, *Tear BreakUp Time*)

**TD-OCT:** OCT de dominio temporal (del inglés, *Time-domain Optical Coherence Tomography*)

**TFL:** película lagrimal (del inglés, *Tear Film Layer*)

**TFLL:** capa lipídica de la película lagrimal (del inglés, *Tear Film Lipid Layer*)

**TFOS:** sociedad de la película lagrimal y la superficie ocular (del inglés, *Tear Film & Ocular Surface Society*)

**TMA:** área de una sección transversal del menisco lagrimal (del inglés, *Tear Meniscus Area*)

**TMH:** altura del menisco lagrimal (del inglés, *Tear Meniscus Height*)

**TMR:** radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal (del inglés, *Tear Meniscus Radius*)

**UMC:** unión muco-cutánea

$\infty$ : ángulo formado por la superficie ocular y la cara externa del menisco

$\vartheta$ : ángulo de contacto obtenido a través del método LIMA

# ÍNDICE

## LISTADO DE ABREVIATURAS

## CAPÍTULO 0. RESUMEN EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....1

<b>1.1. La Unidad funcional lagrimal.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1. Glándulas lagrimales.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2. Córnea.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.3. Conjuntiva.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.4. Párpados.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.5. Inervación sensorial y motora.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1.6. La lagrима.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2. El Ojo Seco.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.1. Definición.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.2. Fisiopatología.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.3. Clasificación.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2.3.1. Ojo seco acuodeficiente.....</b>	<b>18</b>
<b>1.2.3.2. Ojo seco evaporativo.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.4. Epidemiología.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2.4.1. Prevalencia.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2.4.2. Incidencia.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.4.3. Factores de riesgo.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.4.4. Impacto y morbilidad.....</b>	<b>26</b>
<b>1.3. Diagnóstico del ojo seco.....</b>	<b>28</b>
<b>1.3.1. Protocolos diagnósticos establecidos.....</b>	<b>28</b>
<b>1.3.2. Diferenciación con otras enfermedades de la superficie ocular.....</b>	<b>29</b>
<b>1.3.3. Pruebas de detección.....</b>	<b>33</b>
<b>1.3.3.1. Síntomas.....</b>	<b>33</b>
<b>1.3.3.2. Alteraciones visuales.....</b>	<b>33</b>
<b>1.3.3.3. Estabilidad de la película lagrimal.....</b>	<b>34</b>
<b>1.3.3.4. Volumen lagrimal.....</b>	<b>36</b>

1.3.3.5.	Composición de la película lagrimal.....	38
1.3.3.6.	Daño a la superficie ocular.....	40
1.3.3.7.	Inflamación de la superficie ocular.....	43
1.3.3.8.	Alteraciones de los párpados.....	47
1.4.	La tomografía de coherencia óptica en el diagnóstico del ojo seco.....	53
1.4.1.	Repaso histórico de la tecnología.....	53
1.4.2.	Parámetros estudiados del menisco lagrimal.....	56
1.5.	Justificación.....	57
<b>CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....</b>		<b>61</b>
<b>CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>		<b>67</b>
3.1.	Condiciones de la prueba.....	69
3.2.	Instrumentación.....	69
3.3.	Criterios generales de inclusión-exclusión.....	69
3.4.	Sujetos y muestras.....	70
3.4.1.	Muestra 1. Validez del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	70
3.4.2.	Muestra 2. Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	71
3.4.3.	Muestra 3. Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	71
3.4.4.	Muestra 4. Evolución con la edad, y diferencias entre sexos, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA.....	72
3.4.5.	Muestra 5. Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA.....	72
3.5.	Pruebas realizadas.....	75
3.5.1.	Cuestionarios previos.....	76
3.5.1.1.	Test OSDI.....	76
3.5.1.2.	Cuestionario Específico.....	76
3.5.2.	Pruebas no invasivas a mínimamente invasivas.....	77



3.5.2.1.	AS-OCT para la toma de medidas del menisco lagrimal inferior con método LIMA.....	77
3.5.2.2.	AS-OCT para valoración de pliegues conjuntivales paralelos al párpado.....	81
3.5.2.3.	Biomicroscopía 1. Aspecto.....	82
3.5.2.4.	Meibografía sin contacto.....	86
3.5.3.	Pruebas mínimamente invasivas.....	87
3.5.3.1.	Biomicroscopía 2. Fluorescencias.....	87
3.5.4.	Pruebas moderadamente invasivas.....	88
3.5.4.1.	Test de Schirmer 1 sin anestesia.....	88
3.5.4.2.	Expresión de las glándulas de Meibomio.....	89
3.5.4.3.	Calidad del sebo meibomiano.....	89
3.5.5.	Resumen de algoritmos de diferenciación y clasificación de grupos de la muestra 5.....	91
3.6.	Análisis estadístico.....	92
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS.....</b>		<b>97</b>
4.1.	Validez del método LIMA en la medición del área del menisco.....	99
4.2.	Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco.....	103
4.3.	Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco.....	104
4.4.	Evolución con la edad de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA.....	106
4.5.	Diferencias entre sexos de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA.....	118
4.6.	Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA.....	130
<b>CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN.....</b>		<b>143</b>
5.1.	Análisis clínico de resultados y comparación con literatura previa.....	145
5.1.1.	Validez del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	145
5.1.2.	Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	146

5.1.3.	Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal.....	146
5.1.4.	Evolución con la edad de los parámetros geométricos del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA.....	147
5.1.4.1.	Comparación de valores medios y evolución con la edad de la altura del menisco lagrimal.....	148
5.1.4.2.	Comparación de valores medios y evolución con la edad de la profundidad del menisco lagrimal.....	149
5.1.4.3.	Comparación de valores medios y evolución con la edad del área del menisco lagrimal.....	150
5.1.4.4.	Comparación de valores medios y evolución con la edad del radio de curvatura del menisco lagrimal.....	151
5.1.4.5.	Evolución con la edad del ángulo de contacto del menisco lagrimal.....	152
5.1.5.	Diferencias entre sexos de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA.....	152
5.1.6.	Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA.....	153
5.1.6.1.	Altura del menisco lagrimal en el ojo seco.....	154
5.1.6.2.	Profundidad del menisco lagrimal en el ojo seco.....	156
5.1.6.3.	Área del menisco lagrimal en el ojo seco.....	157
5.1.6.4.	Radio de curvatura del menisco lagrimal en el ojo seco..	159
5.1.6.5.	Ángulo de contacto del menisco lagrimal en el ojo seco..	160
5.2.	Protocolo LIMA como alternativa a otros métodos de medida del menisco lagrimal.....	165
5.2.1.	Momento del día.....	165
5.2.2.	Instante de la captura.....	165
5.2.3.	Elección del menisco lagrimal inferior frente al superior.....	167
5.2.4.	Número y ubicación de las capturas tomográficas.....	169
5.2.5.	Modos de captura y herramientas de medición de los instrumentos.....	171
5.2.6.	Trazado de la altura del menisco lagrimal.....	174
5.2.7.	Trazado de la profundidad del menisco lagrimal.....	175

5.2.8. Trazado y cálculo del área de la sección del menisco lagrimal.....	177
5.2.9. Trazado y cálculo del volumen del menisco lagrimal.....	178
5.2.10. Trazado del radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal.....	180
5.2.11. Elección del área frente a otros parámetros del menisco lagrimal.....	182
5.3. Limitación instrumental y metodológica.....	184
5.3.1. Instrumental.....	184
5.3.2. Metodológica.....	188
<b>CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>205</b>
<b>CAPÍTULO 7. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>209</b>
<b>CAPÍTULO 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>213</b>
<b>LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS.....</b>	<b>241</b>
<b>ANEXO I: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA.....</b>	<b>253</b>
<b>ANEXO II: INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO..</b>	<b>254</b>
<b>ANEXO III: FICHAS PACIENTES PARA RECOGIDA DE DATOS.....</b>	<b>257</b>
<b>ANEXO IV: CUESTIONARIO OSDI.....</b>	<b>258</b>
<b>ANEXO V: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PARÁMETROS DEL MENISCO EN SUJETOS SANOS.....</b>	<b>259</b>
<b>ANEXO VI: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PARÁMETROS DEL MENISCO EN SUJETOS CON OJO SECO.....</b>	<b>260</b>
<b>ANEXO VII: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PUNTOS DE CORTE EMPLEADOS Y FIABILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE OJO SECO.....</b>	<b>261</b>



## **CAPÍTULO 0. RESUMEN EN INGLÉS Y ESPAÑOL**



## **Abstract:**

The lacrimal functional unit is an integral system consisting of the lacrimal and Meibomian glands, the ocular surface (cornea and conjunctiva), and the eyelids, as well as the sensory and motor nerves that connect them. The homeostatic mechanism of the lacrimal functional unit regulates tear secretion and distribution in response to signals from the ocular surface, with one of its main objectives being the maintenance of an adequate precorneal tear film.

The tear film layer is made up of two layers, an outer lipid layer and an innermost muco-aqueous gel in contact with the glycocalyx of the corneal epithelium. Of vital importance to its formation is the tear meniscus, which is the strip of tear fluid that lies between the eyeball and the edge of the eyelids.

Dry eye is defined as "a multifactorial ocular surface disease characterised by a loss of tear film homeostasis, and accompanied by ocular symptoms, in which tear film instability and hyperosmolarity, ocular surface inflammation and damage, and neurosensory abnormalities play aetiological roles" (DEWS II Report, 2017).

Dry eye can present with two primary categories: Aqueous Deficient Dry Eye, and Evaporative Dry Eye, although it is important to understand that these two primary categories can co-exist as a result of the evolution of the disease, with the characteristics of both becoming apparent over time. This, together with the different aetiopathogenic subcategories that are precursors of the disease, and the different clinical signs and symptoms present in its development, make a correct diagnosis very complicated.

Acuodeficient dry eye can be caused by different causes, among which Sjögren's syndrome stands out, to such an extent that it can be subdivided into two groups: those who suffer from it and those who do not.

Evaporative dry eye may have its origin in intrinsic physiological alterations (such as eyelid opening or blinking frequency), but also in extrinsic causes (use of contact lenses, topical drugs or vitamin A deficiency). However, among the most important aetiopathogenic forms, the most frequent origin is Meibomian gland dysfunction, which in turn can present two main subtypes: hypersecretory and hyposecretory. Within the latter, obstructive is the most common, and can have a cicatricial origin or a non cicatricial origin.

In the latest meta-analysis by the epidemiology subcommittee of the DEWS II report, the prevalence of dry eye disease is stated to range from 5% to 50%, which may even be as high as 75% in some Asian populations, although these data must be interpreted taking into account the different diagnostic criteria applied worldwide. Among aquodeficients, Sjögren's syndrome leads the most severe forms of dry eye, while Meibomian gland dysfunction is the most prevalent. In some studies, the 10-year incidence of dry eye in a Caucasian population stands at a rate of 21.6%, being significantly higher in women (25%) than in men (17.3%). It is considered one of the main ophthalmological pathological conditions, leading the reasons for hospital consultation with patients feeling pain, irritation and altered visual perception, which in turn can lead to: psychological problems (depression, anxiety and stress), impairment of ocular health, and restriction of certain eminently visual activities of daily living.

Three tests are considered to be markers of this loss of tear film homeostasis: tear break-up time, tear osmolarity and ocular surface staining. Alterations in any of these signs, together with the presence of symptoms, are considered diagnostic tests for DED. But the diagnosis of primary DED requires ruling out other pathological changes of the ocular surface, such as iatrogenic dry eye, primary corneal conditions, allergic conjunctivitis, ocular infections, conditions of the eyelid or in the sensory and motor innervation, as well as other diseases of systemic origin. The screening tests listed in the 2017 TFOS DEWS II diagnostic methodology subcommittee report include the following: symptomatology, visual impairment, stability of the tear film, lacrimal volume, tear film composition, damage to the ocular surface, inflammation of the ocular surface, the state of the lipid layer of the tear film, the expressivity of the meibum, observation of the palpebral edge, and finally the dynamics of the eyelid.

Optical Coherence Tomography (OCT) is a technique that provides high-resolution optical images of sections of biological systems, which is performed rapidly in a non-contact manner, by measuring the delay of a coherent light beam. It was initially applied to the posterior ocular pole, but numerous applications have also been developed for the anterior pole, including meniscometry, which is a method that uses the measurement of certain parameters of the tear meniscus, and is accepted for use as it provides an idea of the patient's tear volume. The most commonly studied geometric parameters being height (TMH), lateral section area (TMA), radius of curvature (TMR), to a lesser extent others such as depth or volume (TMV), and very rarely the angle of contact of the meniscus with the cornea ( $\alpha$ ).



In this thesis we argue that the assessment of these parameters is of interest for their application in the differential diagnosis of dry eye, being feasible to measure them with OCT, but the meniscus measurements obtained will be variable due to factors such as the device used (resolution, scanning speed, measurement tools incorporated), the clinical protocols, and the measurement criteria used.

It is therefore necessary to propose a method that can be implemented in any device, and which in a simple way simplifies the tracing and calculation of the different parameters traditionally studied, as well as others that have not been studied to date. This method of measuring the cross-sectional area of the meniscus has been called LIMA.

In general, TMA is considered to date as the most accurate and reliable parameter to determine the diagnosis of aquodeficient subjects, but it is necessary to explore what differences can be observed in other parameters, which can provide information about patients with evaporative dry eye. And there is some evidence regarding the changes in tear surface tension and viscosity in TMR in dry eye, as well as their relationship to lipid layer thickness. Both aspects are key to understanding the motivation and analysis carried out in this doctoral thesis, which also proposes the analysis of a new parameter, called  $\vartheta$ , which relates TMR and TMH.

The objectives established for this dissertation are several: with respect to the area measured with the LIMA method, to validate the method with respect to a reference method (also separating groups of larger and smaller menisci), and to analyse the inter- and intra-observer reliability of the method; on the other hand, with respect to the parameters: height, depth, and those obtained directly through the LIMA method ( $R$ ,  $\vartheta$ , and the LIMA area), to assess their evolution with age, to compare if there are differences between sexes, and to check if there are changes between a group of healthy patients and two others with DED, classifying them on the basis of their characteristics into eminently ADDE and eminently EDE.

Tests have been carried out in the Optivista optics establishment under controlled environmental conditions (22 °C and humidity close to 50%), using a Maestro OCT device with anterior pole module and an SL-D701 S slit lamp, and as an external application for measuring the tear meniscus, ImageJ software was used.

In general, we excluded from the study any subject with visible palpebral alteration without magnification, in the case of topical treatment, 2 hours without instillation, and in the case of contact lens wearers, a minimum of 24 hours without wearing contact lenses.

Five samples have been established:

Sample 1: Obtained from the right eye of the first 80 patients between 10 and 79 years of age, who attended for optometric examination. On this sample, 2 groups of 40 subjects were established, the larger menisci, on the one hand, and the smaller menisci on the other. It was used to validate the results obtained with the LIMA method, taking as a reference those made with the external software ImageJ.

Sample 2: the area of the tomographic images of the first 40 subjects of sample 1 were measured by two different observers, observer 1 being the author of the work, and Observer 2 another previously trained optometrist. It has been used to determine the reliability of the LIMA method in measuring the area.

Sample 3: composed of 40 subjects randomly selected from the total sample of patients, who underwent 2 scans at an interval of 2-3 minutes, to determine the accuracy of the LIMA method in the measurement of area.

Sample 4: the patients in Sample 1 were randomly increased to 20 valid samples for each decade of age in groups of both male and female patients (280 subjects). It has been used to analyse the evolution with age and the variations between sexes of the meniscus parameters obtained with the LIMA method.

Sample 5: In this sample, patients who had undergone cataract surgery, topical ocular pharmacological treatment, as well as ocular trauma and refractive surgery less than six months previously, or ectasia, punctal plugs and corneal transplants, were also excluded. Also excluded were any subject with any type of eyelid disease, hypersecretory MGD and anterior blepharitis, and among those affecting the ocular surface, allergic or post-refractive conjunctivitis (of more than six months' evolution), and chronic kerato-conjunctivitis (infectious or not). Three groups were selected from among the patients assessed in sample 4: healthy (no alterations), and among those with symptoms of dry eye, a group of aquodeficient (lower tear flow) and evaporative (Meibomian fluid altered in quality or expression, and obstructed or absent Meibomian glands). These samples were used to compare the different parameters of the meniscus and to analyse the differences between the three groups.

The tests performed, in order from lesser to greater ocular alteration, were as follows:

OSDI test: used to differentiate cases with dry eye symptoms (cut-off value  $\geq 13$ ) from healthy cases in sample 5.

Specific questionnaire: data such as age, sex, systemic diseases, medication, ocular trauma, facial paralysis, and ocular diagnoses, diseases or surgeries.

Measurement of the lower lacrimal meniscus with anterior pole OCT: a vertical scan of sufficient quality, centred on the edge of the lower eyelid in its horizontal projection below the centre of the pupil, so that the meniscus is visible on the corneal surface. The image capture was performed 1-2 seconds after blinking, taking into account a reaction time of 2 seconds for the device used in this thesis. The LIMA method uses four linear measurements, taken directly on the tomographic image obtained magnified approximately 200 times: the height of the meniscus (A) or TMH equivalent, the depth of the palpebral rim (B) or TMD equivalent, the corneal height of the meniscus (C), and the meniscus external face (L). Through these, we mathematically obtain other parameters of the meniscus: the radius of curvature formed by the external face of the meniscus or R (which would be equivalent to TMR), and the relationship that this may have with A and which we have called the contact angle ( $\vartheta$ ), a parameter on which there is no previous research in the literature consulted. In addition to the area obtained with the LIMA method, the height of the meniscus A has been used in isolation in this study to quantify, on the one hand, the amount of tears in patients, classifying the subjects in Sample 5 as dry eye suspects, and on the other hand, to classify them into auodeficient and evaporative groups (cut-off value 180  $\mu\text{m}$ ).

Assessment of conjunctival folds parallel to the eyelid (LIPCOF): as physiological indicators of dry eye, following the protocol and score of Berry et al. (cut-off point  $\geq 2$ ), it has been chosen in this work as a serial test, together with ocular surface staining, to differentiate the group of healthy subjects from DED subjects for sample 5.

Aspect: observation of eyelids, eyelashes and anterior surface, on the one hand to characterise the presence of ocular surface diseases such as seborrhoeic blepharitis, and allergic, infectious or parasitic conjunctivitis, which has served to rule out these subjects for sample 5. On the other hand, alterations in the palpebral margin were observed, such as the presence of vascular proliferation, irregularity of the palpebral margin, displacement of the CMU, or alteration of the glandular orifice. It was scored from 0 to 4 according to the number of findings, suspecting the presence of obstructive Meibomian gland dysfunction in sample 5 if at least 2 of these signs are present.

Non-contact meibography: taking an infrared photograph and analysing the percentage by comparison with reference images of the extent of glandular loss, using the method proposed by Pult and Riede-Pult, from a cut-off point of over 25%-50%, served to differentiate the cases of subjects with evaporative dry eye from those with aquodeficiency in sample 5.

Fluorescence: used primarily to rule out the presence of signs compatible with other corneal pathologies observable with fluorescein staining. But also for the quantification of tear break-up time, considering for sample 5 a good quality tear film stability from 10 seconds onwards, and cut-off values  $\leq 5$  to differentiate healthy subjects from those suspected of dry eye. And finally, for the assessment of the integrity of the ocular surface with the Oxford scheme, through the gradation of staining in the corneal area and the two adjacent conjunctival areas; for a clear differentiation between healthy subjects and those with dry eye for sample 5, a cut-off value of  $\geq 3$  in one of the areas, or a total score of  $\geq 6$  for the three areas, respectively, was considered.

Schirmer I test without anaesthesia: which has been used in sample 5 at first as one of the conditions for those cases suspected of dry eye, and at a second stage to (in series with A) classify the aquodeficient ( $\leq 5.5$  mm) and evaporative ( $\geq 7$  mm) groups.

Meibomian gland expression: by digitally pressing the central third of the lower palpebral margin for 10-15 seconds, the Meibomian expression (on a scale of 0 to 3) produced in the orifices of the 5 central glands of the lower eyelid is observed. It is used in sample 5 to classify subjects with evaporative dry eye from less than 1-2 gland expression.

Quality of Meibomian sebum: the expression of the 8 central glands of the lower eyelid is evaluated according to the Foulks and Bron gradation, with those with a score of more than 10 being considered evaporative cases for sample 5.

The results obtained were as follows:

Regarding the validity of the LIMA method in the measurement of meniscal area: both for the sample of smaller menisci ( $p = 0.144$ ), and for the sample of larger menisci ( $p = 0.134$ ), into which sample 1 has been divided, no statistically significant differences were found by applying t-test in the way of measuring with the LIMA method and with the reference method (ImageJ).

The mean area of the samples for both measurement methods calculated on the total sample 1 ( $n = 80$ ) is  $16233.77 \mu\text{m}^2$ , and performed the Bland-Altman representation to assess the agreement between methods, it is observed that the mean difference (bias) between the LIMA method and the ImageJ method is  $195.24 \pm 1816.11 \mu\text{m}^2$  (95% CI,  $-208.92$  to  $599.40 \mu\text{m}^2$ ), just over 1% of the mean area calculated, well below the maximum acceptable clinical difference, established at

10%, and on the other hand, the limits of agreement (LoAs) are between 3754.82 and -3364.34  $\mu\text{m}^2$ , with only 5 cases exceeding these limits.

In terms of reliability of the LIMA method in the measurement of meniscal area: on sample 2 the variability between the measurements performed by both examiners presents a significant absolute agreement ICC ( $p < 0.001$ ) for a single measurement of 0.983 (95% CI, 0.967 to 0.991),  $R = 2287.53$ .

Regarding the accuracy of the LIMA method in the measurement of the meniscus area: on sample 3 the variability between measurements spaced 2-3 minutes apart presents a significant absolute agreement CCI ( $p < 0.001$ ) for a single measurement of 0.949 (95% CI, 0.902 to 0.973),  $R = 2205.92$ .

With regard to the evolution with age: on sample 4 normality was not found for the parameters obtained by the LIMA method in the 7 age groups into which the sample was divided, so the Kruskal-Wallis test was applied in all cases. The median of height are statistically equal among the 7 age groups ( $p = 0.484$ ), the median of depth are statistically equal among the 7 age groups ( $p = 0.177$ ), the median of radio are statistically equal among the 7 age groups ( $p = 0.810$ ), and the median of the LIMA area of the lacrimal meniscus are statistically equal among the 7 age groups ( $p = 0.429$ ). Only in the case of median  $\vartheta$  are at least 2 of the age groups statistically different ( $p = 0.015$ ), and post-hoc analysis with Bonferroni correction reveals statistically significant differences between the 10-19 years age group and the 60-69 years age group ( $p = 0.022$ ), and between the 40-49 years age group versus the 60-69 years age group ( $p = 0.043$ ).

In terms of the difference between sexes: on sample 4, except in the case of  $\vartheta$ , in which normality was found in the samples and the t-Student test was applied, in none of the other cases normality was found in the samples, so the Mann-Whitney U hypothesis test was used. The medians in the female group and the male group are not statistically different in height ( $p = 0.579$ ), in depth ( $p = 0.078$ ), in radius ( $p = 0.577$ ), and in area ( $p = 0.063$ ). Finally, the means of  $\vartheta$  in the female group and the male group are not statistically different ( $p = 0.551$ ).

Regarding the comparison between the finally collected samples groups which fulfilled the established criteria were: healthy ( $n = 20$ ), aquodeficient ( $n = 7$ ) and evaporative ( $n = 19$ ). In three of the parameters obtained with the LIMA method, height, depth and  $\vartheta$ , ANOVA and Tukey's post-hoc are applied. In the case of height, we can not reject that the mean is statistically different in at least two of the age groups ( $p < 0.001$ ), specifically between the aquodeficient group versus evaporatives ( $p = 0.001$ ), and between the aquodeficient and healthy group ( $p <$

0.001), but not in the comparison of evaporatives and healthy ( $p = 0.605$ ). In the case of depth, we can not reject that the mean is statistically different in at least two of the age groups ( $p < 0.001$ ), namely between the aquodeficient group versus EDE ( $p = 0.002$ ), and between the aquodeficient and healthy group ( $p < 0.001$ ), but not in the evaporative and healthy comparison ( $p = 0.359$ ). In the case of  $\vartheta$ , we can fail to reject that the mean is statistically different in at least two of the age groups ( $p = 0.003$ ), namely between the aquodeficient group versus evaporatives ( $p = 0.002$ ), and between the aquodeficient and healthy group ( $p = 0.040$ ), but not in the comparison of evaporatives and healthy ( $p = 0.299$ ). In the case of radius, Welch's robust test of equality of means is finally used, and the mean are statistically equal between the 3 diagnostic groups ( $p = 0.126$ ). In the case of the LIMA area the Kruskal-Wallis test is applied, but the similarity of all distributions is not met, and the LIMA area distributions are statistically significantly different in at least 2 of the age groups ( $p < 0.001$ ). Bonferroni post-hoc analysis reveals statistically significant differences between the aquodeficient group versus the evaporative group ( $p = 0.004$ ), and between the aquodeficient and healthy group ( $p < 0.001$ ), but not in the evaporative and healthy comparison ( $p = 0.877$ ).

In conclusion, given the need for a procedure that unifies the criteria for measuring the geometric parameters of the inferior lacrimal meniscus using AS-OCT, the LIMA method has been shown to be valid, reliable and accurate in the measurement of the transverse area. In the absence of further studies analysing a larger population sample, no differences were observed with age in the geometric parameters A, B, R and LIMA area, nor were differences found between sexes in any of the parameters analysed with the LIMA method, although these results must also take into account the low statistical power obtained in the general population sample used. Differences were found between the group of healthy subjects and those considered to have dry eye in the geometric parameters analysed: A, B, LIMA area and  $\vartheta$ , except for parameter R. Taking into account the low number of subjects analysed, the LIMA method, in addition to being simple and fast, has proved to be useful for differentiating aquodeficient subjects from lipodeficient and healthy subjects.

## **Resumen:**

La unidad funcional lagrimal es un sistema integral formado por las glándulas lagrimales y de Meibomio, la superficie ocular (córnea y conjuntiva) y los párpados, así como los nervios sensoriales y motores que los conectan. El mecanismo homeostático de la unidad funcional lagrimal regula la secreción y distribución de la lágrima en respuesta a las señales de la superficie ocular, siendo uno de sus principales objetivos el mantenimiento de una adecuada película lagrimal precorneal.

La película lagrimal está formada por dos capas, una capa lipídica externa y un gel muco-acuoso interno en contacto con el glicocálix del epitelio corneal. De vital importancia para su formación es el menisco lagrimal, que es la franja de líquido lagrimal que se encuentra entre el globo ocular y el borde de los párpados.

El ojo seco se define como "una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal, y acompañada de síntomas oculares, en la que la inestabilidad de la película lagrimal y la hiperosmolaridad, la inflamación y el daño de la superficie ocular, y las anomalías neurosensoriales desempeñan papeles etiológicos" (Informe DEWS II, 2017).

El ojo seco puede presentarse con dos categorías principales: Ojo Seco Deficiente Acuoso, y Ojo Seco Evaporativo, aunque es importante entender que estas dos categorías primarias pueden coexistir como resultado de la evolución de la enfermedad, haciéndose evidentes las características de ambas con el tiempo. Esto, unido a las diferentes subcategorías etiopatogénicas precursoras de la enfermedad, y a los diferentes signos y síntomas clínicos presentes en su desarrollo, hacen muy complicado un diagnóstico correcto.

El ojo seco acuodeficiente puede deberse a diferentes causas, entre las que destaca el síndrome de Sjögren, hasta el punto de que se puede subdividir en dos grupos: los que lo padecen y los que no.

El ojo seco evaporativo puede tener su origen en alteraciones fisiológicas intrínsecas (como la apertura de los párpados o la frecuencia de parpadeo), pero también en causas extrínsecas (uso de lentes de contacto, fármacos tópicos o déficit de vitamina A). Sin embargo, entre las formas etiopatogénicas más importantes, el origen más frecuente es la disfunción de las glándulas de

Meibomio, que a su vez puede presentar dos subtipos principales: hipersecretoria e hiposecretoria. Dentro de esta última, la obstructiva es la más común, y puede tener un origen cicatricial o no cicatricial.

En el último meta-análisis del subcomité de epidemiología del informe DEWS II, se afirma que la prevalencia de la enfermedad del ojo seco oscila entre el 5% y el 50%, pudiendo llegar incluso al 75% en algunas poblaciones asiáticas, aunque estos datos deben interpretarse teniendo en cuenta los diferentes criterios diagnósticos aplicados en todo el mundo. Entre los acuodeficientes, el síndrome de Sjögren encabeza las formas más graves de ojo seco, mientras que la disfunción de las glándulas de Meibomio es la más prevalente. En algunos estudios, la incidencia del ojo seco a 10 años en una población caucásica se sitúa en una tasa del 21.6%, siendo significativamente mayor en las mujeres (25%) que en los hombres (17.3%). Se la considera una de las principales condiciones patológicas oftalmológicas, liderando los motivos de consulta hospitalaria con pacientes que sienten dolor, irritación y alteración de la percepción visual, lo que a su vez puede producir respectivamente: problemas psicológicos (depresión, ansiedad y estrés), afectación de la salud ocular, y restricción de ciertas actividades eminentemente visuales de la vida diaria.

Tres pruebas se consideran marcadores de esta pérdida de la homeostasis de la película lagrimal: el tiempo de ruptura de la lágrima, la osmolaridad de la lágrima y la tinción de la superficie ocular. Las alteraciones de cualquiera de estos signos, junto con la presencia de síntomas, se consideran pruebas diagnósticas de la DED. Pero el diagnóstico de DED primaria requiere descartar otras alteraciones patológicas de la superficie ocular, como el ojo seco iatrogénico, las afecciones corneales primarias, las conjuntivitis alérgicas, las infecciones oculares, las afecciones del párpado o en la inervación sensorial y motora, así como otras enfermedades de origen sistémico. Las pruebas de cribado enumeradas en el informe del subcomité de metodología diagnóstica del TFOS DEWS II de 2017 incluyen las siguientes: sintomatología, deterioro visual, estabilidad de la película lagrimal, volumen lagrimal, composición de la película lagrimal, daños en la superficie ocular, inflamación de la superficie ocular, estado de la capa lipídica de la película lagrimal, expresividad del meibum, observación del borde palpebral y, por último, dinámica del párpado.



La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica que proporciona imágenes ópticas de alta resolución de secciones de sistemas biológicos, que se realiza rápidamente y sin contacto, midiendo el retardo de un haz de luz coherente. Inicialmente se aplicó al polo ocular posterior, pero también se han desarrollado numerosas aplicaciones para el polo anterior, entre ellas la meniscometría, que es un método que utiliza la medición de determinados parámetros del menisco lagrimal, y cuyo uso está aceptado ya que proporciona una idea del volumen lagrimal del paciente. Los parámetros geométricos más estudiados son la altura (TMH), el área de sección lateral (TMA), el radio de curvatura (TMR), en menor medida otros como la profundidad o el volumen (TMV), y muy raramente el ángulo de contacto del menisco con la córnea ( $\alpha$ ).

En esta tesis argumentamos que la valoración de estos parámetros es de interés para su aplicación en el diagnóstico diferencial del ojo seco, siendo factible su medición con OCT, pero las medidas del menisco obtenidas serán variables debido a factores como el dispositivo utilizado (resolución, velocidad de barrido, herramientas de medición incorporadas), los protocolos clínicos y los criterios de medición utilizados.

Por ello, es necesario proponer un método que pueda ser implementado en cualquier dispositivo, y que de forma sencilla simplifique el trazado y cálculo de los diferentes parámetros tradicionalmente estudiados, así como otros no estudiados hasta la fecha. Este método de medición del área transversal del menisco se ha denominado LIMA.

En general, la TMA se considera hasta la fecha como el parámetro más preciso y fiable para determinar el diagnóstico de los sujetos acuodeficientes, pero es necesario explorar qué diferencias pueden observarse en otros parámetros, que pueden aportar información sobre los pacientes con ojo seco evaporativo. Y existen algunas evidencias sobre los cambios en la tensión superficial de la lágrima y la viscosidad en la TMR en el ojo seco, así como su relación con el grosor de la capa lipídica. Ambos aspectos son claves para entender la motivación y el análisis realizado en esta Tesis Doctoral, que además propone el análisis de un nuevo parámetro, denominado  $\vartheta$ , que relaciona la TMR y la TMH.

Los objetivos establecidos para esta tesis son varios: respecto al área medida con el método LIMA, validar el método respecto a un método de referencia (separando además grupos de meniscos más grandes y más pequeños), y analizar la fiabilidad inter e intraobservador del método; por otro lado, respecto a los parámetros: altura, profundidad, y los obtenidos directamente a través del método LIMA (radio,  $\vartheta$ , y el área LIMA), valorar su evolución con la

edad, comparar si existen diferencias entre sexos, y comprobar si existen cambios entre un grupo de pacientes sanos y otros dos con EDE, clasificándolos en función de sus características en eminentemente ADDE y eminentemente EDE.

Las pruebas se han realizado en el establecimiento de óptica Optivista en condiciones ambientales controladas (22 °C y humedad cercana al 50%), utilizando un equipo Maestro OCT con módulo de polo anterior y una lámpara de hendidura SL-D701 S, y como aplicación externa para la medición del menisco lagrimal se ha utilizado el software ImageJ.

En general, se excluyó del estudio a todo sujeto con alteración palpebral visible sin aumento, en el caso de tratamiento tópico, 2 horas sin instilación, y en el caso de los usuarios de lentes de contacto, un mínimo de 24 horas sin usarlas.

Se han establecido cinco muestras:

Muestra 1: Obtenida del ojo derecho de los primeros 80 pacientes de entre 10 y 79 años de edad, que acudieron al examen optométrico. Sobre esta muestra se establecieron 2 grupos de 40 sujetos, los meniscos mayores, por un lado, y los menores por otro. Se utilizó para validar los resultados obtenidos con el método LIMA, tomando como referencia los realizados con el software externo ImageJ.

Muestra 2: el área de las imágenes tomográficas de los primeros 40 sujetos de la muestra 1 fueron medidas por dos observadores diferentes, siendo el observador 1 el autor del trabajo, y el observador 2 otro optometrista previamente entrenado. Se ha utilizado para determinar la fiabilidad del método LIMA en la medición del área.

Muestra 3: compuesta por 40 sujetos seleccionados aleatoriamente de la muestra total de pacientes, a los que se les realizaron 2 escaneos con un intervalo de 2-3 minutos, para determinar la precisión del método LIMA en la medición del área.

Muestra 4: los pacientes de la muestra 1 fueron aumentados aleatoriamente a 20 muestras válidas por cada década de edad en grupos de pacientes masculinos y femeninos (280 sujetos). Se ha utilizado para analizar la evolución con la edad y las variaciones entre sexos de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA.

Muestra 5: En esta muestra también se excluyeron los pacientes que habían sido operados de cataratas, tratamiento farmacológico ocular tópico, así como traumatismos oculares y cirugía refractiva con menos de seis meses de antelación, o ectasias, taponos puntuales y trasplantes de córnea. También se excluyeron los sujetos con cualquier tipo de enfermedad de los párpados, la

MGD hipersecretoria y la blefaritis anterior, y entre las que afectaban a la superficie ocular, la conjuntivitis alérgica o postrefractiva (de más de seis meses de evolución), y la queratoconjuntivitis crónica (infecciosa o no). Entre los pacientes evaluados en la muestra 4 se seleccionaron tres grupos: sanos (sin alteraciones), y entre los que presentaban síntomas de ojo seco, un grupo de acuodéficientes (menor flujo lagrimal) y evaporativos (líquido Meibomiano alterado en su calidad o expresión, y glándulas de Meibomio obstruidas o ausentes). Estas muestras se utilizaron para comparar los distintos parámetros del menisco y analizar las diferencias entre los tres grupos.

Las pruebas realizadas, en orden de menor a mayor alteración ocular, fueron las siguientes:

Test OSDI: utilizado para diferenciar los casos con síntomas de ojo seco (valor de corte  $\geq 13$ ) de los casos sanos de la muestra 5.

Cuestionario específico: datos como edad, sexo, enfermedades sistémicas, medicación, traumatismos oculares, parálisis facial y diagnósticos, enfermedades o cirugías oculares.

Medición del menisco lagrimal inferior con OCT de polo anterior: una tomografía vertical de calidad suficiente, centrada en el borde del párpado inferior en su proyección horizontal por debajo del centro de la pupila, de forma que el menisco sea visible en la superficie corneal. La captura de imágenes se realizó 1-2 segundos después del parpadeo, teniendo en cuenta un tiempo de reacción de 2 segundos para el dispositivo utilizado en esta tesis. El método LIMA utiliza cuatro medidas lineales, tomadas directamente sobre la imagen tomográfica obtenida ampliada aproximadamente 200 veces: la altura del menisco (A) o equivalente TMH, la profundidad del borde palpebral (B) o equivalente TMD, la altura corneal del menisco (C) y la cara externa del menisco (L). A través de ellos, obtenemos matemáticamente otros parámetros del menisco: el radio de curvatura que forma la cara externa del menisco o R (que equivaldría al TMR), y la relación que éste puede tener con A y que hemos denominado ángulo de contacto ( $\vartheta$ ), parámetro sobre el que no existen investigaciones previas en la literatura consultada. Además del área obtenida con el método LIMA, la altura del menisco A se ha utilizado de forma aislada en este estudio para cuantificar, por un lado, la cantidad de lágrima de los pacientes, clasificando a los sujetos de la Muestra 5 como sospechosos de ojo seco, y por otro lado, para clasificarlos en grupos acuodéficientes y evaporativos (valor de corte  $180 \mu\text{m}$ ).

Valoración de los pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF): como indicadores fisiológicos de ojo seco, siguiendo el protocolo y puntuación de Berry et al. (punto de corte  $\geq 2$ ),

se ha elegido en este trabajo como prueba seriada, junto con la tinción de la superficie ocular, para diferenciar el grupo de sujetos sanos de los sujetos con DED para la muestra 5.

Aspecto: observación de párpados, pestañas y superficie anterior, por un lado para caracterizar la presencia de enfermedades de la superficie ocular como blefaritis seborreica, y conjuntivitis alérgicas, infecciosas o parasitarias, lo que ha servido para descartar a estos sujetos para la muestra 5. Por otro lado, se observaron alteraciones en el margen palpebral, como la presencia de proliferación vascular, irregularidad del margen palpebral, desplazamiento de la UMC o alteración del orificio glandular. Se puntuó de 0 a 4 según el número de hallazgos, sospechando la presencia de una disfunción obstructiva de las glándulas de meibomio en la muestra 5 si estaban presentes al menos 2 de estos signos.

Meibografía sin contacto: la toma de una fotografía infrarroja y el análisis del porcentaje por comparación con imágenes de referencia de la extensión de la pérdida glandular, según el método propuesto por Pult y Riede-Pult, a partir de un punto de corte superior al 25%-50%, sirvió para diferenciar los casos de sujetos con ojo seco evaporativo de los que presentaban acuodeficiencia en la muestra 5.

Fluorescencia: se utilizó principalmente para descartar la presencia de signos compatibles con otras patologías corneales observables con la tinción de fluoresceína. Pero también para la cuantificación del tiempo de ruptura de la lágrima, considerando para la muestra 5 una estabilidad de la película lagrimal de buena calidad a partir de 10 segundos, y valores de corte  $\leq 5$  para diferenciar a los sujetos sanos de los sospechosos de ojo seco. Y por último, para la valoración de la integridad de la superficie ocular con el esquema de Oxford, a través de la gradación de la tinción en la zona corneal y las dos zonas conjuntivales adyacentes; para una clara diferenciación entre sujetos sanos y con ojo seco para la muestra 5, se consideró un valor de corte de  $\geq 3$  en una de las zonas, o una puntuación total de  $\geq 6$  para las tres zonas, respectivamente.

Prueba de Schirmer I sin anestesia: que se ha utilizado en la muestra 5 en un primer momento como una de las condiciones para aquellos casos sospechosos de ojo seco, y en un segundo momento para (en serie con A) clasificar los grupos acuodeficientes ( $\leq 5,5$  mm) y evaporativos ( $\geq 7$  mm).

Expresión de las glándulas de Meibomio: presionando digitalmente el tercio central del margen palpebral inferior durante 10-15 segundos, se observa la expresión de Meibomio (en una escala de 0 a 3) producida en los orificios de las 5 glándulas centrales del párpado inferior. Se utiliza en

la muestra 5 para clasificar a los sujetos con ojo seco evaporativo de menos de 1-2 de expresión de las glándulas.

Calidad del sebo de Meibomio: se evalúa la expresión de las 8 glándulas centrales del párpado inferior según la gradación de Foulks y Bron, considerándose casos evaporativos para la muestra 5 aquellos con una puntuación superior a 10.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

En cuanto a la validez del método LIMA en la medición del área del menisco: tanto para la muestra de meniscos más pequeños ( $p = 0,144$ ), como para la muestra de meniscos más grandes ( $p = 0,134$ ), en la que se ha dividido la muestra 1, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas aplicando la prueba t en la forma de medir con el método LIMA y con el método de referencia (ImageJ). El área media de las muestras para ambos métodos de medición calculada sobre el total de la muestra 1 ( $n = 80$ ) es de  $16233,77 \mu\text{m}^2$ , y realizada la representación de Bland-Altman para evaluar la concordancia entre métodos, se observa que la diferencia media (sesgo) entre el método LIMA y el método ImageJ es de  $195,24 \pm 1816,11 \mu\text{m}^2$  (IC 95%,  $-208,92$  a  $599,40 \mu\text{m}^2$ ), algo más del 1% del área media calculada, muy por debajo de la diferencia clínica máxima aceptable, establecida en el 10%, y por otro lado, los límites de concordancia (LoAs) se sitúan entre  $3754,82$  y  $-3364,34 \mu\text{m}^2$ , con sólo 5 casos que superan estos límites.

En lo relativo a la fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco: en la muestra 2 la variabilidad entre las mediciones realizadas por ambos examinadores presenta una concordancia absoluta significativa ICC ( $p < 0,001$ ) para una sola medición de  $0,983$  (IC 95%,  $0,967$  a  $0,991$ ),  $R = 2287,53$ .

Con respecto a la precisión del método LIMA en la medición del área del menisco: en la muestra 3 la variabilidad entre las mediciones espaciadas 2-3 minutos presenta un acuerdo absoluto significativo CCI ( $p < 0,001$ ) para una sola medición de  $0,949$  (IC 95%,  $0,902$  a  $0,973$ ),  $R = 2205,92$ .

En cuanto a la evolución con la edad: en la muestra 4 no se encontró normalidad para los parámetros obtenidos por el método LIMA en los 7 grupos de edad en que se dividió la muestra, por lo que se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis en todos los casos. La mediana de la altura es estadísticamente igual entre los 7 grupos de edad ( $p = 0,484$ ), la mediana de la profundidad es estadísticamente igual entre los 7 grupos de edad ( $p = 0,177$ ), la mediana del radio es estadísticamente igual entre los 7 grupos de edad ( $p = 0,810$ ), y la mediana del área LIMA del

menisco lagrimal es estadísticamente igual entre los 7 grupos de edad ( $p = 0,429$ ). Sólo en el caso de la mediana de  $\vartheta$  son estadísticamente diferentes al menos 2 de los grupos de edad ( $p = 0,015$ ), y el análisis post-hoc con corrección de Bonferroni revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de 10-19 años y el de 60-69 años ( $p = 0,022$ ), y entre el grupo de 40-49 años frente al de 60-69 años ( $p = 0,043$ ).

En lo relativo a la diferencia entre sexos: en la muestra 4, salvo en el caso de  $\vartheta$ , en el que se encontró normalidad en las muestras y se aplicó la prueba t-Student, en ninguno de los otros casos se encontró normalidad en las muestras, por lo que se utilizó la prueba de hipótesis U de Mann-Whitney. Las medianas del grupo de mujeres y del grupo de hombres no son estadísticamente diferentes en altura ( $p = 0,579$ ), en profundidad ( $p = 0,078$ ), en radio ( $p = 0,577$ ) y en área ( $p = 0,063$ ). Por último, las medias de  $\vartheta$  en el grupo de mujeres y en el de hombres no son estadísticamente diferentes ( $p = 0,551$ ).

Con respecto a la comparación entre las muestras finalmente recogidas, los grupos que cumplían los criterios establecidos eran: sanos ( $n = 20$ ), acuodeficientes ( $n = 7$ ) y evaporíticos ( $n = 19$ ). En tres de los parámetros obtenidos con el método LIMA, altura, profundidad y  $\vartheta$ , se aplica ANOVA y post-hoc de Tukey. En el caso de la altura, no se puede rechazar que la media sea estadísticamente diferente en al menos dos de los grupos de edad ( $p < 0,001$ ), concretamente entre el grupo acuodeficiente frente a los evaporativos ( $p = 0,001$ ), y entre el grupo acuodeficiente y el sano ( $p < 0,001$ ), pero no en la comparación de evaporativos y sanos ( $p = 0,605$ ). En el caso de la profundidad, no podemos rechazar que la media sea estadísticamente diferente en al menos dos de los grupos de edad ( $p < 0,001$ ), concretamente entre el grupo acuodeficiente frente al EDE ( $p = 0,002$ ), y entre el grupo acuodeficiente y el sano ( $p < 0,001$ ), pero no en la comparación de evaporativos y sanos ( $p = 0,359$ ). En el caso de  $\vartheta$ , no podemos rechazar que la media sea estadísticamente diferente en al menos dos de los grupos de edad ( $p = 0,003$ ), concretamente entre el grupo acuodeficiente frente a los evaporativos ( $p = 0,002$ ), y entre el grupo acuodeficiente y el sano ( $p = 0,040$ ), pero no en la comparación de evaporativos y sanos ( $p = 0,299$ ). En el caso del radio, se utiliza finalmente la prueba robusta de igualdad de medias de Welch, y las medias son estadísticamente iguales entre los 3 grupos de diagnóstico ( $p = 0,126$ ). En el caso del área del LIMA se aplica la prueba de Kruskal-Wallis, pero no se cumple la similitud de todas las distribuciones, y las distribuciones del área del LIMA son estadísticamente significativamente diferentes en al menos 2 de los grupos de edad ( $p < 0,001$ ). El análisis post-hoc de Bonferroni revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de acuodeficientes frente al grupo de evaporativos ( $p = 0,004$ ), y entre el grupo de

acuodeficientes y el grupo de sanos ( $p < 0,001$ ), pero no en la comparación entre el grupo de evaporativos y el de sanos ( $p = 0,877$ ).

Como conclusión, ante la necesidad de un procedimiento que unifique los criterios de medición de los parámetros geométricos del menisco lagrimal inferior a través de AS-OCT, el método LIMA se ha demostrado válido, fiable y preciso en la medida del área trasversal. A falta de estudios posteriores que analicen una muestra de población más numerosa, no se han observado diferencias con la edad en los parámetros geométricos A, B, R y área LIMA, como tampoco se han encontrado diferencias entre sexos en ninguno de los parámetros analizados con el método LIMA, aunque ante estos resultados igualmente se ha de tener en cuenta la baja potencia estadística obtenida sobre la muestra de población general empleada. Sí que se han encontrado diferencias entre el grupo de sujetos sanos y los considerados con sequedad ocular en los parámetros geométricos analizados: A, B, área LIMA y  $\vartheta$ , excepto para el parámetro R. Teniendo en cuenta el bajo número de sujetos analizados, el método LIMA, además de simple y rápido, ha demostrado ser útil para diferenciar los sujetos acuodeficientes de los lipodeficientes y de los sanos.



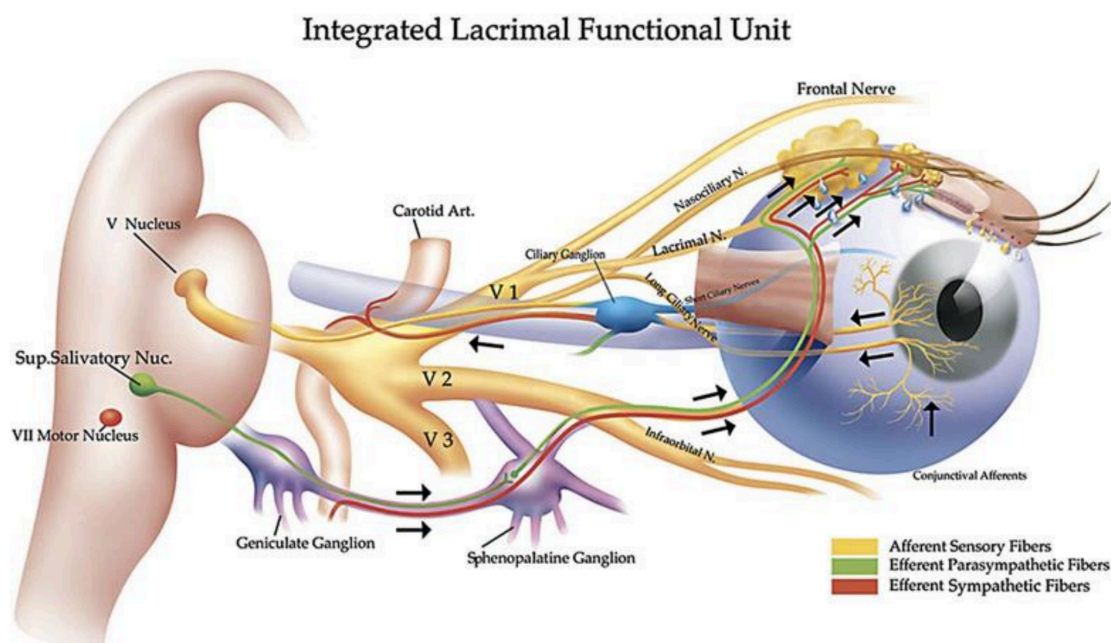


# **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. La Unidad funcional lagrimal

La Unidad funcional lagrimal es un sistema integral formado por las glándulas lagrimales y de Meibomio, la superficie ocular (córnea y conjuntiva), y los párpados, así como los nervios sensoriales y motores que los conectan (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop, 2007*)) (Figura 1.1).



**Figura 1.1. Representación de la Unidad Funcional Lagrimal. (Extraído de *Dry Eye and Ocular Surface Disorders*, Pflugfelder, Beuerman, Stern, 2004).(Bron et al., 2017)**

#### 1.1.1. Glándulas lagrimales

Encargadas de producir el fluido lagrimal, en el ojo humano podemos encontrar la glándula principal y las accesorias.

La glándula principal es una glándula serosa de forma túbulo-acinar con un lóbulo situado en la zona orbital más grande, y otro lóbulo más pequeño en la zona palpebral superior lindando con el saco conjuntival, en cuyo fórnix superior se abren entre 6 y 12 orificios.

De similares características fisiológicas, las accesorias sólo constituyen un 10% de la masa de tejido lagrimal total, y son de dos tipos: Krause, unas 40 en el fornix superior y entre 6-8 en el

## INTRODUCCIÓN

inferior; y Wolfring (ligeramente más grandes) entre 2 y 5 glándulas en el superior y entre 1 y 3 en el inferior.

La configuración fisiológica de los diferentes tipos de células que la componen permite la secreción unidireccional sobre la superficie ocular de agua, electrolitos, proteínas y mucinas, en respuesta a estímulos nerviosos y hormonales.(Bron et al., 2017)

### 1.1.2. Córnea

La córnea es una estructura de tejido avascular compuesto de 6 capas, que ocupa la zona anterior del globo ocular, y tiene como función proteger las estructuras intraoculares, permitiendo a su vez la transmisión de la luz y su focalización sobre el fondo del ojo. En su periferia gradualmente se transforma en esclera, denominándose limbo a la zona de transición.

La superficie ocular está compuesta por una capa continua de epitelio que reviste tanto a la córnea como a toda la zona anterior del globo ocular, pasando por el tarso interno del párpado y extendiéndose hasta la unión muco-cutánea de los márgenes palpebrales. Por sus características, en la córnea este epitelio es de tipo estratificado, compuesto por 5 o 6 capas de células columnares que aumentan hasta 8-10 en su zona periférica, con un grosor medio es de unas 51 micras ( $\mu\text{m}$ ). Sus células están muy contactadas entre ellas a través de diferentes tipos de uniones: estrechas, adherentes, desmosomas, hemidesmosomas y GAP, con el objetivo de servir de barrera a la entrada de fluidos o microorganismos.

Bajo este epitelio puede ser distinguida la presencia de una membrana basal de 60 a 65 nanómetros (nm) de espesor.

Situada bajo la membrana basal, la membrana de Bowman es una capa de tejido acelular transparente no regenerable, de aproximadamente 17  $\mu\text{m}$ , formado fundamentalmente por fibrillas uniformes de colágeno tipo I.(Kanski, 2012)

A continuación, con un grosor medio aproximado de 500  $\mu\text{m}$ , el estroma constituye el 90% del espesor corneal. Está formado por fibras de colágeno, queratocitos y matriz extracelular.(Canan et al., 2014)

La existencia de la capa Dua, acelular de unas 15  $\mu\text{m}$  de espesor, y situada entre la última fila de queratocitos y la membrana de Descemet, fue propuesta en 2013 por Harminder Dua, teniendo como principal característica su fuerza y resistencia (Dua et al., 2013).

Bajo ésta, la membrana de Descemet tiene entre 2 y 20  $\mu\text{m}$  de grosor, y puede considerarse la membrana basal del endotelio.

Finalmente, en la parte más interna, el endotelio es una capa única de entre 3000 a 5500 células escamosas (predominantemente hexagonales) por milímetro cuadrado (mm<sup>2</sup>) en un ojo sano, de unas 5 µm de espesor, y que tienen la función de regular la cantidad de fluido que entra desde la cámara anterior.(Kanski, 2012)

### 1.1.3. Conjuntiva

Resumiendo la descripción que hace el informe de fisiopatología (Bron et al., 2017) de la *Tear Film and Ocular Surface Society*, en adelante TFOS en su reunión celebrada en 2017, denominada DEWS II (del inglés, *Dry Eye WorkShop*), la conjuntiva es una membrana mucosa formada por una lámina de tejido conectivo o estroma, recubierta por un epitelio que junto al corneal es mantenido permanentemente húmedo. Actúa como una barrera contra el medio exterior, segrega varios productos en la película lagrimal, e incorpora antígenos de forma selectiva para su inmuno-protección.

Dependiendo de su localización se divide en: la conjuntiva oclusal, que se extiende desde la unión mucocutánea o UMC en el borde de los párpados, hasta el pliegue subtarsal, incluyendo la zona de apoyo o “limpiaparabrisas”; la conjuntiva tarsal, que a partir de esa última zona permanece fuertemente adherida a la placa tarsal del párpado, continuando después de forma flexible en la zona orbital hasta llegar al fornix; y la conjuntiva bulbar, que situada sobre la esclera recubre toda la superficie externa del globo ocular que no es ocupada por la córnea.(Bron et al., 2017)

En el epitelio de la conjuntiva pueden encontrarse dos tipos de células, que derivan de las mismas células madre conjuntivales: las epiteliales y las de Goblet, aunque no está clara la disposición exacta de estas células precursoras en la conjuntiva.

Las células epiteliales conjuntivales producen, aparte de agua, electrolitos y mucinas, proteínas funcionales como la lubricina. Al igual que en el epitelio corneal, la membrana apical de las células más superficiales presentan microvellosidades que se proyectan en la lágrima, incrementando el área de superficie en la que ambas interactúan. Estas células producen mucinas de membrana integral, que constituyen el glicocáliz superficial de la célula, necesario para su humectabilidad hacia la parte acuosa de película lagrimal. Otro tipo de mucinas son segregadas a través de la membrana plasmática celular de las células de las capas más externas, tanto de la conjuntiva como de la córnea, como son la MUC1, MUC4 y MUC16, que permiten con su glicosilación convertir la inicialmente hidrofóbica membrana plasmática en hidrofílica. El

## INTRODUCCIÓN

glicocálix también actúa como un lubricante que reduce la fricción, y como un anti-adhesivo que combate la colonización microbiana. Como las corneales, las células del epitelio conjuntival están estrechamente unidas, lo que además de servir de barrera a la entrada de solutos disueltos las hace fuertes al estrés mecánico que sufren, aunque entre ellas pueden observarse espacios intercelulares considerables que parecen estar asociados al transporte de agua a lo largo del epitelio.

Las células de Goblet (o caliciformes) se pueden encontrar dispersas en prácticamente todo el epitelio conjuntival, aunque su número se incrementa desde la región temporal superior hasta la nasal inferior del saco conjuntival. Estas células son las responsables de la secreción de la mucina en forma de gel (MUC5AC), la cual tiene una enorme capacidad de acumular agua y de esta forma transformar la parte acuosa de la lágrima en un gel mucoacuoso, que constituye el principal volumen de la película lagrimal preocular. Las mucinas segregadas tiene también una función de lubricación en la interfase que forma el párpado con el globo ocular, lubricación que es particularmente importante en el epitelio más elevado de la zona del limpiaparabrisas del párpado, en contacto muy estrecho con el globo ocular, y donde estas mucinas tienen propiedades diferentes.(Bron et al., 2017)

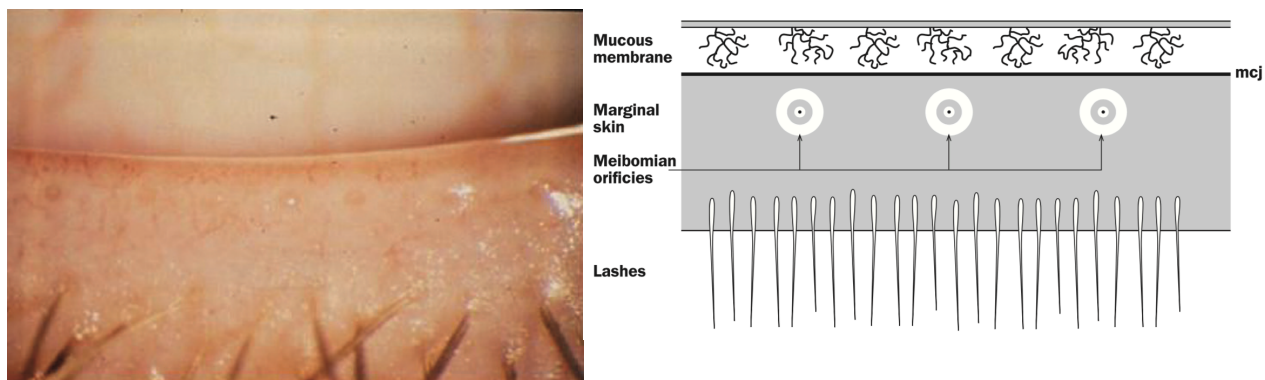
### 1.1.4. Párpados

Los párpados cumplen varias funciones, relacionadas tanto con la protección de la superficie ocular, como con la correcta distribución, limpieza y renovación de la lágrima.

En condiciones controladas de temperatura (22 °C) y humedad (40%), el ratio de parpadeo espontáneo en adultos normales se sitúa entre 15 y 20 por minuto, aunque puede variar tanto por factores personales (estado mental, atención, actividad física) del paciente, como por factores ambientales (incremento por baja humedad, frío y viento).(Bron et al., 2017) Parece ser mayor en mujeres que en hombres, pero el efecto de la edad es controvertido (Wolffsohn et al., 2017).

En lo que concierne a este trabajo, a continuación se proceden a resumir las características fisiológicas más importantes de los párpados y las posibles diferencias a observar con la edad.

Tal como se observa en la Figura 1.2. izquierda, el borde de los párpados de un sujeto sano debe ser regular y no estar redondeado. El grosor del borde del párpado en niños varía entre 1.43 y 1.63 mm en el párpado superior y 1.41 y 1.61 mm en el inferior, grosor que se incrementa de una forma natural a partir de la adolescencia hasta los 1.88 y 2.02 mm en el superior, y 1.81 y 1.93 mm en el inferior.(Tomlinson et al., 2011)



**Figura 1.2.** Izquierda: Fotografía del borde del párpado inferior de un sujeto joven normal (Foulks y Bron, 2003). Derecha: Dibujo esquemático de la posición relativa y aspecto de la línea de pestañas, orificios meibomianos, unión mucocutánea y la conjuntiva oclusal, del borde palpebral de un sujeto sano (Bron, Benjamin y Snibson, 1991).

Los párpados de los niños sanos suelen estar típicamente poco vascularizados, sin presencia de teleangiectasias, hiperqueratinización cutánea o blefaritis escamosa. En los ancianos es normal encontrar de forma más común un relativo aumento de los dos primeros signos, sobre todo en el párpado inferior. Como también es más frecuente que con el incremento de la edad se produzca una hiperemia de la conjuntiva tarsal del párpado inferior. (Tomlinson et al., 2011)

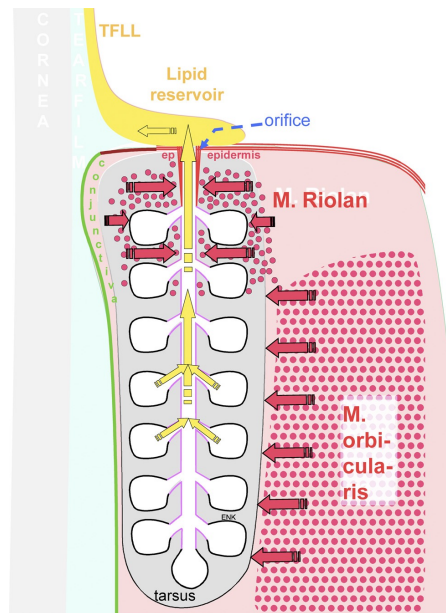
La UMC, tal como se observa en la Figura 1.2. derecha, se sitúa en la unión de los dos tercios anteriores y el tercio posterior del borde marginal del párpado, permaneciendo constante en una posición inmediatamente posterior a los orificios de las glándulas de Meibomio (Tomlinson et al., 2011). La UMC es el límite entre la epidermis escamosa estratificada y queratinizada de la piel del borde palpebral, y la escamosa estratificada paraqueratinizada conjuntiva oclusal (Bron et al., 2017). Aunque puede discurrir de forma irregular en las personas de mayor edad, no se han encontrado cambios significativos en su posición o forma.

Añadir finalmente que, a diferencia del resto del cuerpo, no se ha encontrado una disminución significativa en el número de pestañas con la edad. (Tomlinson et al., 2011)

Identificadas por Galen en el 200 AD (Foulks y Bron, 2003) y descritas por primera vez en 1666 por Heinrich Meibom (Knop et al., 2011), las más tarde conocidas como glándulas de Meibomio o MGs (del inglés, *Meibomian Glands*) son glándulas sebáceas modificadas insertadas de forma vertical en la placa tarsal del párpado superior (entre 30 y 40 glándulas de unos 10 mm de longitud) e inferior (entre 20 y 30 de unos 5 mm) (Foulks y Bron, 2003). Cada una de ellas está

## INTRODUCCIÓN

compuesta por un largo conducto central rodeado de estructuras en forma de racimo llamados acinos glandulares. Estos acinos están llenos de meibocitos, cuya secreción es conducida hacia la cavidad del conducto central a través de los ductos, para finalmente salir a través de los orificios, situados en el borde del párpado a nivel de la epidermis (Figura 1.3). Para la secreción fisiológica es necesaria la acción de compresión sobre las glándulas, que se deriva de la acción del parpadeo y del músculo orbicular, y cuando el párpado está relajado, del músculo de Riolan (Ngo, Srinivasan y Jones, 2012).



**Figura 1.3. Dibujo que representa la sección del párpado, mostrando la estructura fisiológica de una glándula de Meibomio, así como el recorrido normal de la secreción desde los acinos glandulares hasta formar parte de la película lagrimal (Knop et al., 2011).**

Los orificios de las MGs están dispuestos en intervalos regulares a lo largo del borde del párpado, y están rodeados por una característica arquitectura en forma de anillo (Figura 1.2), que refleja la disposición concéntrica de las diferentes estructuras que lo componen: mucosa, borde distal del conducto, fibras del músculo de Riolan y el tejido conectivo que envaina la glándula. Esta disposición se vuelve menos visible con la edad y en pacientes con degeneración avanzada de estas glándulas, lo cual es un signo clínico importante que debe tenerse en cuenta. (Tomlinson et al., 2011)

En 2011, el informe del subcomité de diagnóstico del internacional *Workshop on Meibomian Gland Dysfunction* (Tomlinson et al., 2011) o MGDW resume la función fisiológica de las MGs de la siguiente forma: Las glándulas están bajo control hormonal y neural, y segregan su aceite



en el reservorio superficial del margen de los párpados. La secreción es intrínseca a la glándula y su salida es ayudada por el parpadeo.

Esta mezcla de lípidos secretada, también denominada *meibum*, ha de observarse como un fluido claro, y en sujetos jóvenes normales debe ser expresada con facilidad (Tomlinson et al., 2011).

El 95% de éstos son lípidos no polares, entre los que se incluyen las ceras y los ésteres de colesterol, con pequeñas cantidades de triglicéridos; mientras el otro 5% son fundamentalmente lípidos polares (ácidos grasos de cadena larga) o OAHFAs (del inglés, *O-acyl-u-hydroxy-fatty acids*), y fosfolípidos (Bron et al., 2017).

### **1.1.5. Inervación sensorial y motora**

La unidad funcional lagrimal controla los principales componentes de la película lagrimal de una forma regulada, y responde a las influencias ambientales, endocrinológicas y corticales. Su función es la de conservar la integridad de la película lagrimal y la transparencia de la córnea, permitiendo una buena calidad en la imagen proyectada en la retina. (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007) El flujo lagrimal que se produce durante la vigilia es modulado por impulsos reflejos desde la superficie ocular (córnea, conjuntiva y borde palpebral) y el pasadizo nasal, que discurren por el nervio trigémino para hacer sinopsis en el núcleo salivatorio superior (Figura 1.1), proporcionando el extremo aferente del circuito de retroalimentación, mientras que la inervación secretomotora de los apéndices oculares (glándulas lagrimales, MGs y células conjuntivales de Goblet) proporcionan el extremo eferente del circuito (Bron et al., 2017).

La córnea está ricamente inervada por estos nervios aferentes trigeminales, que penetran por las capas estromales media y anterior y se disponen en forma radial hacia el centro. Los filamentos nerviosos en general no pierden su vaina de mielina hasta que han atravesado la córnea más de 1 mm, y a medida que avanzan sobre ésta, los nervios se dividen en el plexo subepitelial, perforando la membrana de Bowman y formando el plexo subbasal debajo del epitelio, para finalmente, las terminaciones nerviosas libres correr entre las células epiteliales en disposición simple, ramificada o compleja, hacia las capas más externas. (Belmonte et al., 2017)

Se han detectado tres tipos de terminaciones nerviosas: nociceptoras polimodales (sensibles a su vez a presión, acidez o calor), nociceptoras mecánicas (a estímulos mecánicos), y los termorreceptores de temperatura (que responden al frío y con otros dos subtipos en función de si responden a temperaturas más altas o más bajas) (Belmonte et al., 2017). Una vez dañadas, estas

## INTRODUCCIÓN

terminaciones nerviosas no recuperan exactamente su sensibilidad anterior (Kanski, 2012). Y las evidencias sugieren que, en condiciones diurnas, la secreción lagrimal está conducida en gran parte por los impulsos sensoriales de los termorreceptores de frío corneales (Bron et al., 2017). Éstos detectan humedad y mantienen el reflejo de producción basal de lágrima y el ritmo de parpadeo (Belmonte et al., 2017).

La extremidad eferente es una vía parasimpática cuyo motor secretor está en las fibras preganglionares que surgen en el núcleo salivatorio superior. Según suponen algunas teorías, estas fibras salen de la protuberancia por el nervio intermedio del séptimo par craneal y alcanzan el ganglio pterigopalatino a través del nervio del conducto pterigoideo, donde estas fibras postganglionares alcanzan las glándulas lagrimales a través del nervio lagrimal.(Bron et al., 2017)

Por otra vía neural se controla el reflejo del parpadeo, además de la vía aferente trigeminal y las fibras eferentes somáticas del séptimo par craneal. Otros centros más altos alimentan los núcleos del tronco encefálico, con un rico suministro simpático a los epitelios y los vasos de las glándulas y la superficie ocular.(*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007) Por ello, hay que tener en cuenta que tanto la glándula lagrimal principal como las accesorias están inervadas por el sistema nervioso simpático y el parasimpático, por lo que se asume que responden de forma similar a la estimulación refleja.

También las MGs están inervadas por nervios sensoriales simpáticos y parasimpáticos, aunque pueden ser sensibles también a determinados agentes químicos conocidos como: los andrógenos, estrógenos, progesterona, glucocorticoides, insulina, glucosa alta, ciclosporina A, pilocarpina, timolol, hormonas pituitarias, mineralo-corticoides, factores de crecimiento, toxinas bacterianas, antibióticos, ácido retinoico, ácidos grasos omega, drogas anfílicas catiónicas, Rebamipide y Bimatoprost.(Bron et al., 2017)

### **1.1.6. La lágrima**

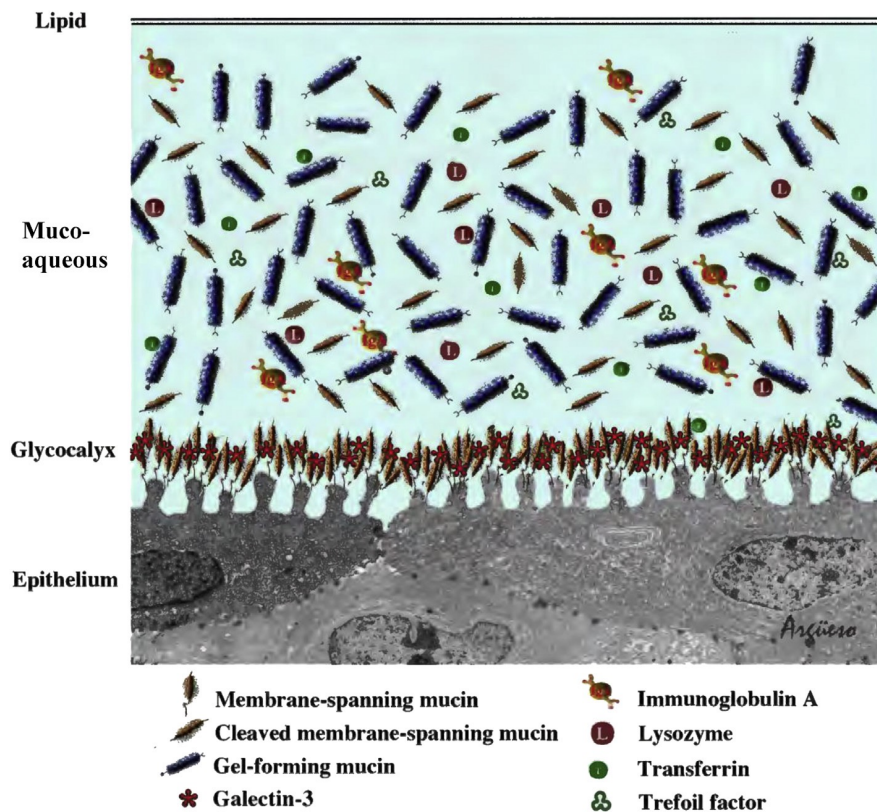
Las lágrimas son secretadas fundamentalmente por las glándulas lagrimales, aunque adicionalmente contribuye la conjuntiva (células de Goblet incluidas), y las MGs. Cuando el ojo está abierto está constantemente sujeto a estrés por desecación, a través de la evaporación de la lágrima del espacio interpalpebral de la superficie ocular. El mecanismo homeostático de la unidad funcional lagrimal regula la secreción y distribución de la lágrima, en respuesta a señales de la superficie ocular.

## INTRODUCCIÓN

En el ojo abierto la lágrima se distribuye en tres compartimentos: el fornical, que ocupa el fornix y el espacio retrotarsal, el menisco lagrimal, y la película lagrimal precocular.

En el caso de la película precorneal de lágrima, ésta recubre con un grosor aproximado de 3  $\mu\text{m}$  el contorno corneal de una forma bastante estable. En el caso de la película prebulbar, ésta sigue el variable contorno de la conjuntiva bulbar, pero su grosor es desconocido. (Bron et al., 2017)

En el modelo tradicional, las capas de la película lagrimal o TFL (del inglés, Tear Film Layer) están compuestas, desde el exterior hacia el interior, por la TFL (del inglés, *Tear Film Lipid Layer*), la capa mucosacuosa y el glicocáliz (Figura 1.4). Aunque en la actualidad se prefiere considerar un modelo de TFL de dos capas, con un gel mucoacuoso en la zona más interna, pero a su vez formando parte integral con la capa lipídica, más superficial (Bron et al., 2017).



**Figura 1.4.** Dibujo en el que se representa la estructura tradicional de la película lagrimal (Willcox et al., 2017).

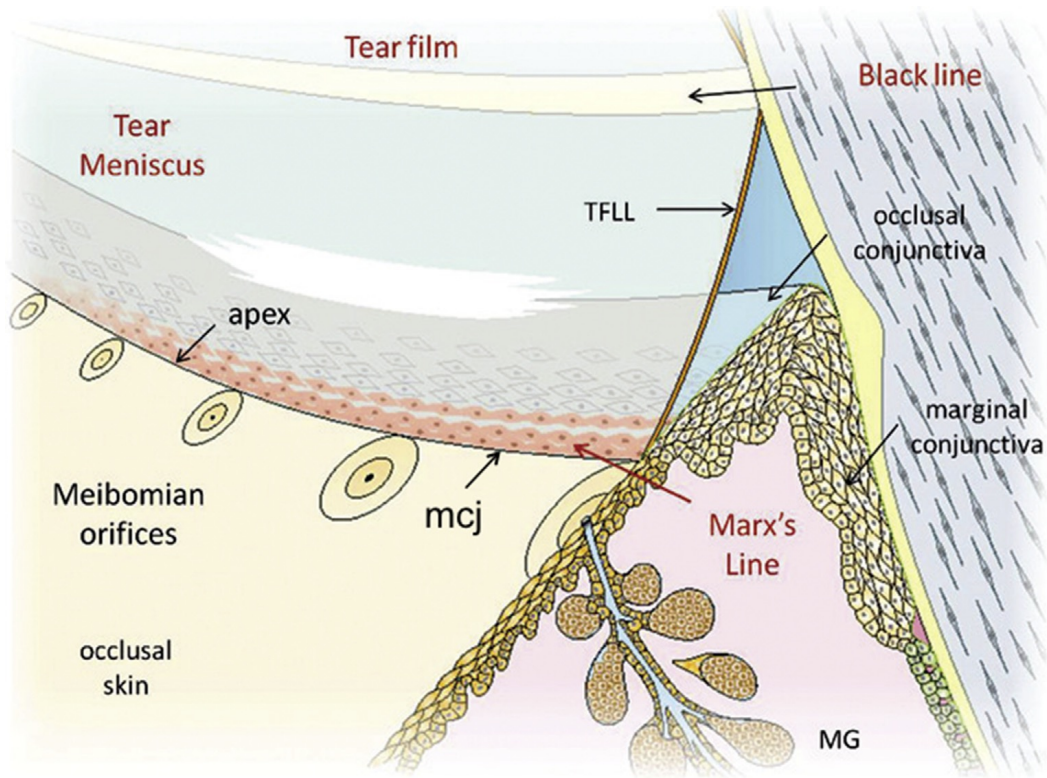
En la fase interna, que constituye la mayor parte del grosor de la TFL, las mucinas y algunas proteínas presentes forman un gel que estabiliza y extiende el fluido lagrimal segregado en las glándulas lagrimales con el parpadeo (Willcox et al., 2017), interactuando directamente con el glicocáliz del epitelio (Bron et al., 2017).

## INTRODUCCIÓN

Los lípidos secretados por las MGs en el reservorio lagrimal se esparcen sobre la fase mucoacuosa en el menisco lagrimal. Las lágrimas se distribuyen sobre la superficie ocular por la acción combinada de los párpados, el movimiento por capilaridad y la deriva ascendente de la capa de lípidos, formando la estructura final de la TFL.(Willcox et al., 2017) Aunque para el correcto esparcimiento de la película lagrimal, también se ha considerado importante la diferencia de temperatura que mantiene el *meibum* con la superficie de la córnea, más fría (unos 33.5°C) (Tomlinson et al., 2011). Diferentes estudios realizados de los lípidos de la lágrima proponen que la TFL, de aproximadamente 42 nm (15 -157 nm) de grosor medio (Bron et al., 2017), está formada por una gruesa estructura doble viscoelástica, compuesta de una capa más externa en contacto con el aire, formada por una suspensión lipófila generalmente no estructurada en la superficie, y bajo ésta, en contacto con la capa mucoacuosa, una capa monomolecular de lípidos polares (Willcox et al., 2017).

El menisco lagrimal es la tira de fluido lagrimal que yace apostada entre el globo ocular y el borde de los párpados (Figura 1.5).

Al instilar colorantes en la lágrima como la fluoresceína sódica, en el borde del párpado puede observarse una línea de células teñidas que forman la denominada línea de Marx, que yace bajo el ápex del menisco lagrimal, el cual finaliza en la UMC. En la zona bulbar, se produce un adelgazamiento antes de formarse la película lagrimal preocular, denominada línea negra (o *Black line*) por la reducida fluorescencia que se observa en la tinción de la película lagrimal, y que marca el otro límite del menisco.(Willcox et al., 2017)



**Figura 1.5. Dibujo esquemático del menisco lagrimal inferior y el borde marginal del párpado de un sujeto sano. El menisco recubre y humedece, tanto al borde externo de la mucosa conjuntival occlusal hasta la unión muco-cutánea, como el área adyacente del globo ocular hasta la denominada línea negra.(Bron, Yokoi, Gaffney y Tiffany, 2011)**

## 1.2. El Ojo Seco

### 1.2.1. Definición

Aunque a nivel internacional podemos encontrar varias definiciones formales de ojo seco, como la inicialmente planteada en 1995 por la *National Eye Institute/Industry Work-shop on Clinical Trials in Dry Eye* (Lemp, 1995), o la revisión de 2007 del TFOS con la publicación del informe del Taller Internacional sobre Ojo Seco (*Dry Eye WorkShop*), más conocido como DEWS, según la última actualización de la TFOS, publicada en 2017 y denominado Informe DEWS II, el ojo seco se establece como: “...una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal, y acompañada por síntomas oculares, en los cuales la inestabilidad y la hiperosmolaridad de la película lagrimal, la inflamación y el daño de la superficie ocular, y las anomalías neurosensoriales juegan roles etiológicos”. (Nelson et al., 2017; Craig et al., 2017 A).

Aunque en este trabajo se va a emplear el acrónimo más ampliamente aceptado para la enfermedad del ojo seco (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop, 2007*): DED (del inglés, *Dry Eye Disease*), habría que aclarar que en el panel Delphi de consenso de expertos internacionales reunidos en 2006 (Behrens et al., 2006), y en otro más reciente (Milner et al., 2017) compuesto por miembros de la *Cornea, External Disease, and Refractive Society* (CEDARS), se propuso un nuevo término para la enfermedad de ojo seco: DTS (del inglés, *Dysfunctional Tear Syndrome*).

### 1.2.2. Fisiopatología

Basándose en la literatura con revisión científica externa, el subcomité de fisiopatología del TFOS DEWS II (Bron et al., 2017) concluyó que, en la DED, se produce un fallo en el mecanismo homeostático que regula la secreción y distribución de la TFL en respuesta a las señales procedentes de la superficie ocular. Esto conduce a una deficiencia cuantitativa o cualitativa de la TFL, lo que típicamente induce inestabilidad, defectos en la humectación y estrés hiperosmolar, incremento en la fricción e irritación mecánica crónica de la superficie ocular. Esto inicia una cadena de eventos inflamatorios y daño en la superficie ocular que caracterizan a la enfermedad.

El ciclo de eventos, descrito como el “círculo vicioso de la DED”, se muestra en el centro de la Figura 1.6.

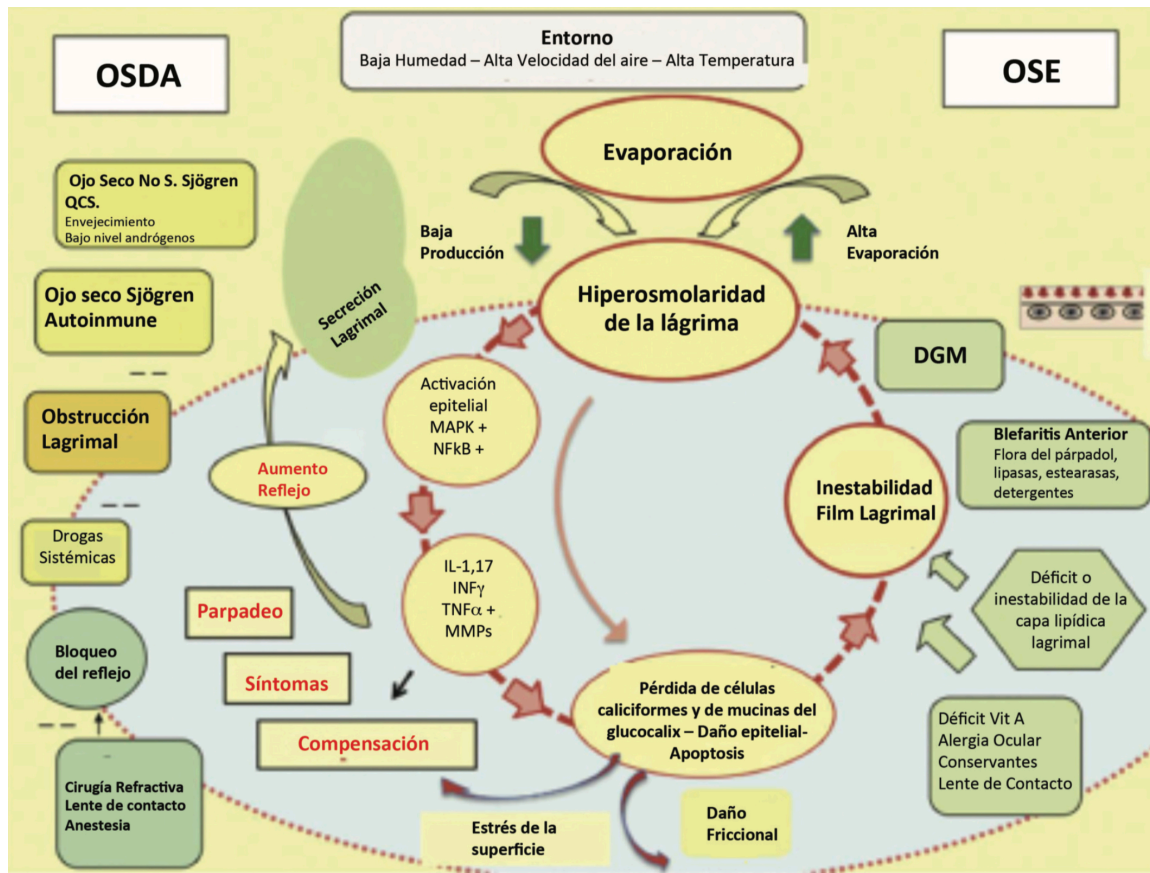


Figura 1.6. Círculo fisiopatológico del ojo seco (Craig et al., 2017 B).

A modo de resumen, en la DED, la hiperosmolaridad lagrimal se considera el elemento desencadenante para una cascada de eventos de señalización en las células epiteliales de la superficie, que provoca la liberación de mediadores inflamatorios y proteasas. Se entiende que estos mediadores, junto con la propia hiperosmolaridad lagrimal, causan la pérdida de células de Goblet y epiteliales, así como daño en el glicocalix epitelial, ya que se han notificado cambios en la cantidad de mucina o glicosilación de distintos componentes en las lágrimas recogidas en pacientes con DED, aunque no hay actualmente definido ningún criterio diagnóstico. Una lesión epitelial y un glicocalix defectuoso, la pérdida de volumen lagrimal y de la mucina de las células de Goblet, conducen a un aumento del daño por fricción y a síntomas relacionados con la fricción. Los mediadores inflamatorios de los linfocitos T activados reclutados en la superficie ocular refuerzan el daño. El resultado neto es la denominada queratopatía punteada superficial o



SPK (del inglés, *Superficial Punctate Keratopathy*) característica del DED, y una inestabilidad de la película lagrimal que conduce en algún punto a la desintegración temprana de la película lagrimal. Esta desintegración exagera y amplifica la hiperosmolaridad lagrimal y completa el círculo vicioso que conduce al daño en la superficie ocular, y en último término esto da paso a una autoperpetuación de la enfermedad.(Craig et al., 2017 B)

### 1.2.3. Clasificación

La DED puede presentar por tanto dos categorías primarias: el ojo seco por falta de secreción acuosa o ADDE (del inglés, *Aqueous Deficient Dry Eye*), y el ojo seco evaporativo o EDE (del inglés, *Evaporative Dry Eye*), y ambas a su vez se subclasifican en base a sus etiologías (Lemp, 1995; *The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007; Craig et al., 2017 A), tal como puede observarse en la Figura 1.7.



Figura 1.7. Clasificación etiopatogénica planteada en el informe DEWS en 2007 (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007).



Pero en la evolución del conocimiento de la enfermedad, en el informe más reciente hasta la fecha propuesto por el subcomité de definición y clasificación del informe DEWS II (Craig et al., 2017 A) se enfatizan dos conceptos importantes, reflejados en la parte inferior del esquema de la Figura 1.8. Por un lado, el entender que ADDE y EDE pueden solaparse, ya que como resultado de la evolución de la enfermedad ambas pueden coexistir, y por otro, que al no ser por tanto entidades separadas, las diferentes subcategorías propuestas (basadas en un esquema de manejo clínico), pueden también tener signos característicos de otras formas etiopatogénicas, que pueden surgir con el desarrollo de la enfermedad en el tiempo. Mientras que es posible que el ADDE pueda darse sin signos obvios de EDE y viceversa, a medida que avanza la DED, es cada vez más probable que las características tanto de ADDE como de EDE se hagan patentes (Craig et al., 2017 B).

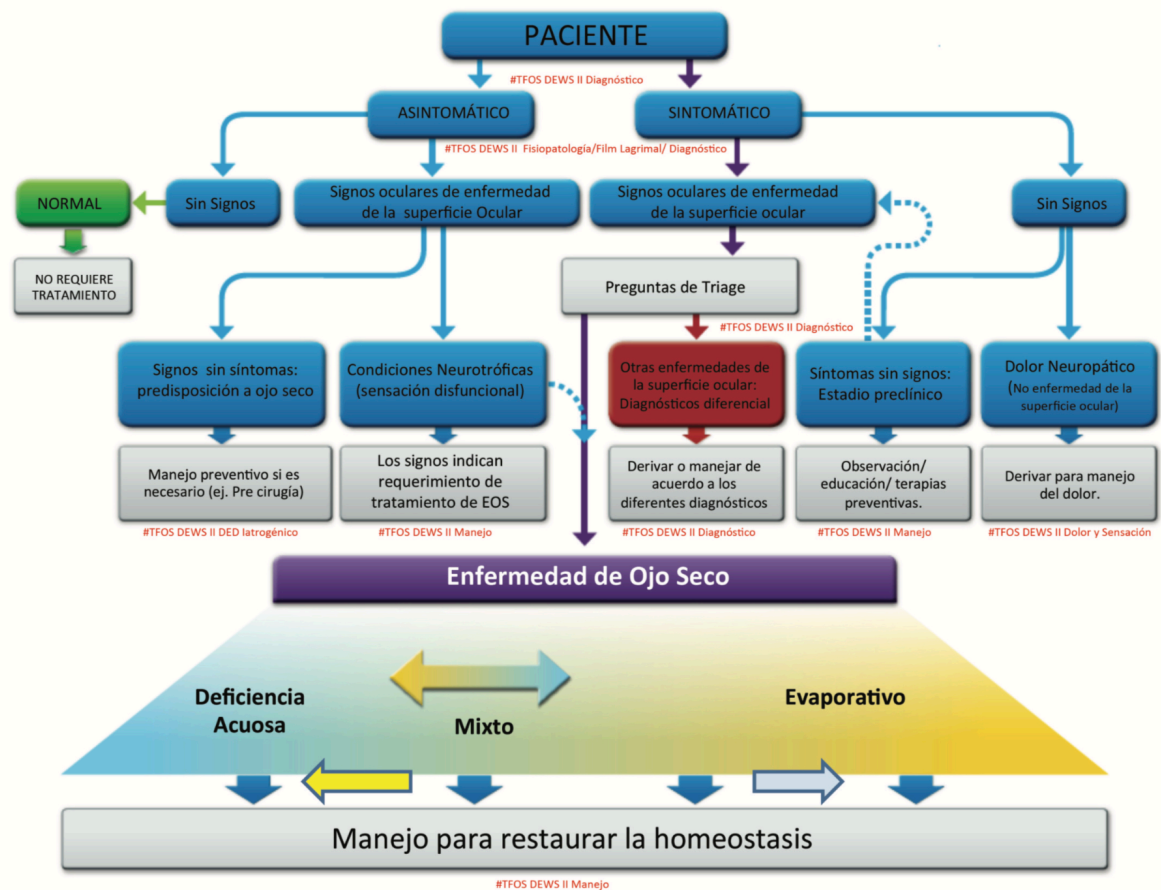


Figura 1.8. Esquema de clasificación de la enfermedad de ojo seco propuesto en 2017 en el Informe DEWS II. En el bloque superior se observa el algoritmo de decisión clínica, en el inferior la clasificación primaria del DED.(Craig et al., 2017 A)

## INTRODUCCIÓN

Es por ello importante señalar que, a partir de la definición actual del DED, éste se subclasifica en formas donde los signos son predominantemente evaporativos, o predominantemente acuodeficientes, y el espectro entre ambos. Utilizando este criterio diagnóstico es por tanto posible establecer un modelo de clasificación clínico en función de la severidad de los signos y de la posición dentro del espectro ADDE-EDE.(Wolffsohn et al., 2017)

### 1.2.3.1. Ojo seco acuodeficiente

El ADDE, denominado también ATD (del inglés, *Aqueous Tear Deficiency*) en algunos estudios, puede estar provocado por diferentes causas, que serán ampliadas más adelante en este trabajo, pero que podemos resumir en: daño en la glándula lagrimal, como por ejemplo por exposición a la radiación, o de forma crónica como en el síndrome de Sjögren u otras enfermedades autoinmunes, como la diabetes, el síndrome de Meige o el de Pseudoexfoliación (Bron et al., 2017); el bloqueo en la transmisión del impulso sensorial a la glándula lagrimal, como el causado por un abuso crónico de anestésicos tópicos, daños en el nervio trigémino o cirugía refractiva; la reducción de secreción lagrimal por fármacos de uso sistémico como los antihistamínicos, b-bloqueadores, antiespasmódicos, diuréticos y algunos psicotrópicos; alteraciones hormonales, como bajos niveles de andrógenos en el tejido, que pueden también predisponer a la inflamación de la glándula lagrimal; o finalmente, también pueden deberse a una obstrucción de los conductos lagrimales, que pueden producirse en enfermedades cicatriciales conjuntivales, como el tracoma, penfigoide cicatricial ocular, eritema multiforme, enfermedad de injerto contra huésped o GVHD (del inglés, *Graft Versus Host Disease*) y quemaduras químicas.(Craig et al., 2017 B)

Dentro de las formas de la DED predominantemente ADDE se puede establecer una subdivisión básica en dos grupos: los que padecen el síndrome de Sjögren (SS) y los que no lo sufren, tal como se observa en la Figura 1.7.

El síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad crónica autoinmune que afecta a las glándulas exocrinas, y de forma notable a las glándulas lagrimales y salivares, causando DED y sequedad bucal, además de afectar a otros órganos sistémicos. Como en otras enfermedades autoinmunes, la glándula lagrimal es infiltrada por linfocitos y otras células inmunológicas, con predilección por las áreas periductales.(Bron et al., 2017)

A pesar de que no están del todo claramente identificadas sus causas, el SS primario podría ser el resultado de un rango de respuestas inmunes a detonantes medioambientales y virales que

## INTRODUCCIÓN

ocurren en individuos genéticamente susceptibles. Es importante también la influencia hormonal, y en todo caso induce una pérdida de la tolerancia inmune, la presentación de antígenos y la desregulación tanto del sistema inmunitario innato como del adaptativo. (Bron et al., 2017)

Aunque la presencia de lesiones histológicas es considerada como el criterio más importante en su diagnóstico, el SS puede presentar diferentes fenotipos, que en la actualidad pueden ser diferenciados mediante pruebas (Vitali et al., 2002) en función de los niveles definidos de desregulación inmune: acumulación tisular de linfocitos, pérdida de células T regulatorias, y/o la generación de anticuerpos. En humanos, es importante considerar la influencia de la edad, el sexo (tal como ocurre en los no SS tiene también mayor predilección por las mujeres, sobre todo a partir de la menopausia), y la duración del SS (ligada a su vez a la esperanza de vida) (Bron et al., 2017).

El síndrome de Sjögren secundario puede estar asociado a otras enfermedades sistémicas, entre las que se encuentran: la artritis reumatoide, la poliarteritis nodosa, el lupus sistémico eritematoso, la granulomatosis de Wegener, la esclerosis sistémica, la cirrosis biliar primaria, y otras enfermedades del tejido conectivo (Bron et al., 2017).

### 1.2.3.2. Ojo seco evaporativo

El EDE es la forma preponderante dentro de la DED, lo que veíamos reflejado en la Figura 1.8 con una mayor proporción dedicada a los casos con EDE que ADDE (Craig et al., 2017 B). Puede ser debido a alteraciones intrínsecas, como un trastorno en la apertura de los párpados o una baja frecuencia de parpadeo (Figura 1.7), y el informe de fisiopatología del DEWS II (Bron et al., 2017) añade otras enfermedades sistémicas como el párkinson. En la Figura 1.7 se puede observar que puede deberse también a otras causas extrínsecas, como el uso de lentes de contacto, el uso de fármacos tópicos conservantes o un déficit de vitamina A, todo ello descartando previamente que pueda ser debido a la existencia de otras enfermedades de la superficie ocular u OSD (del inglés, *Ocular Surface Disease*), como más adelante ampliaremos en este trabajo.

Pero entre las formas etiopatogénicas más importantes, dentro de los sujetos predominantemente EDE encontramos como origen más frecuente la disfunción de las glándulas de Meibomio ó MGD (del inglés, *Meibomian Gland Dysfunction*) (Tomlinson et al., 2011), aunque hay otras

alteraciones que pueden producir la enfermedad de la MG, tal como se aprecia en la primera subdivisión de la Figura 1.9.

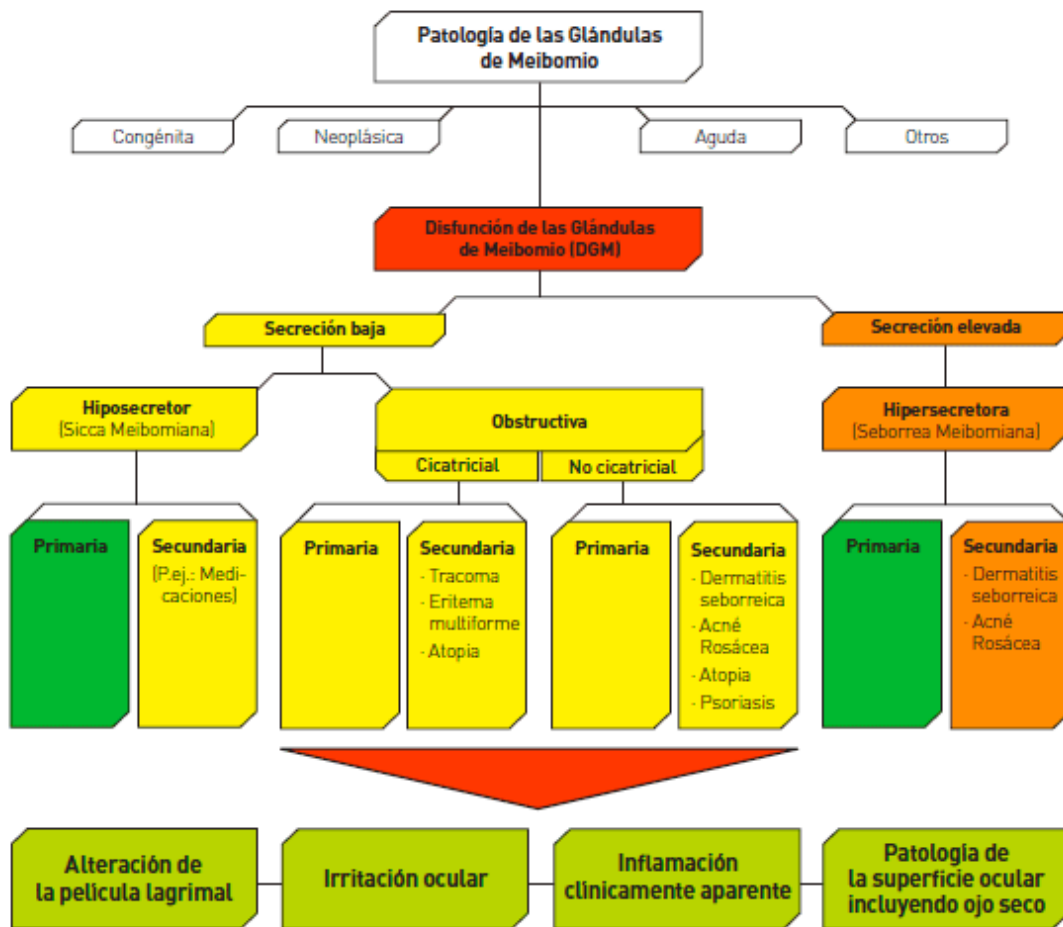


Figura 1.9. Clasificación de las enfermedades de la glándula de Meibomio propuesta en 2003 por Foulks y Bron.

En la segunda subdivisión de la Figura 1.9, puede observarse que la MGD puede presentar dos formas principales, la de baja y la de alta secreción.

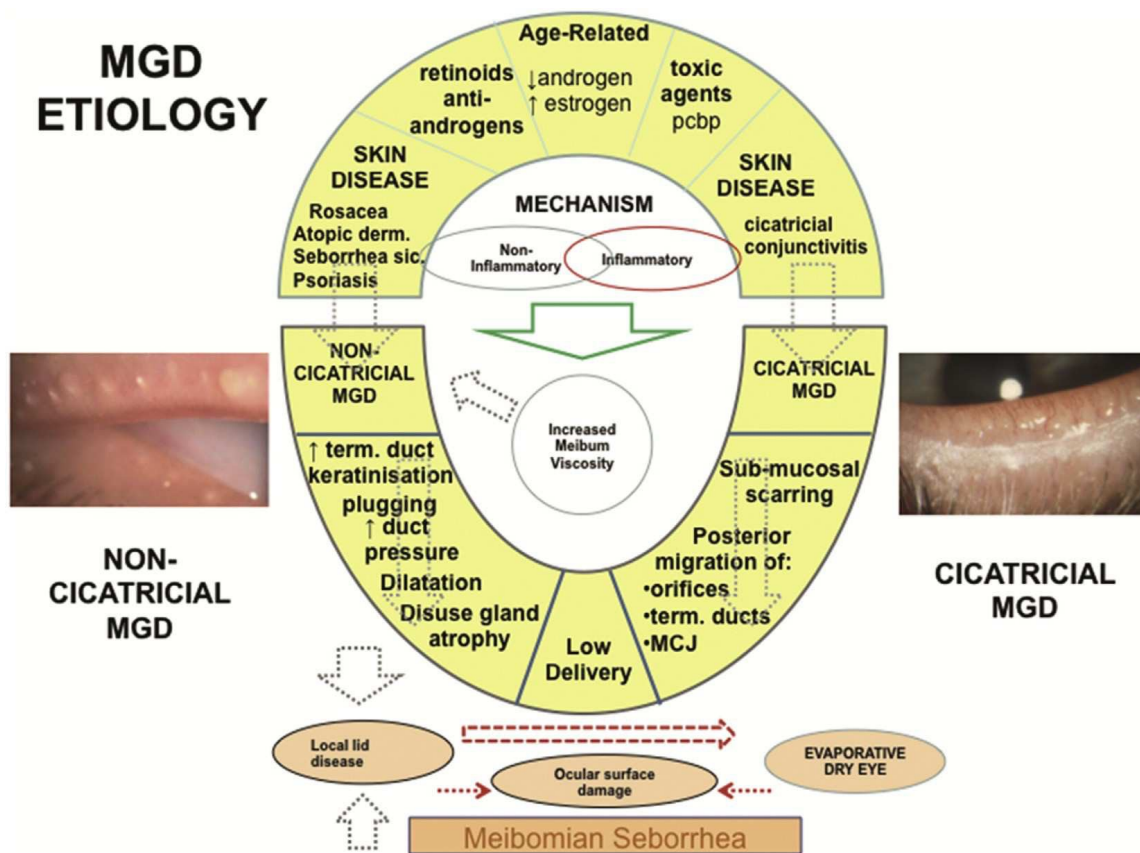
En el supuesto de la MGD de alta secreción, o forma hipersecretoria de la MG, el aumento en la producción de la secreción de las glándulas denominado seborrea meibomiana puede ser primario, o derivado de enfermedades como la dermatitis seborreica o el acné rosácea (Tomlinson et al., 2011).

En el supuesto de MGD de baja secreción, a su vez, podemos encontrar su origen en una disminución de la producción de la MG, denominada hiposecretoria, o por un taponamiento de su orificio, denominada obstructiva.

## INTRODUCCIÓN

En el caso de la forma hiposecretoria, donde las MGs dejan de producir la suficiente secreción de lípidos para mantener una adecuada TFLL, no se conocen los mecanismos que pueden producirla de forma primaria, pero sí se ha demostrado que puede aparecer de forma secundaria a los retinoides. (Foulks y Bron, 2003)

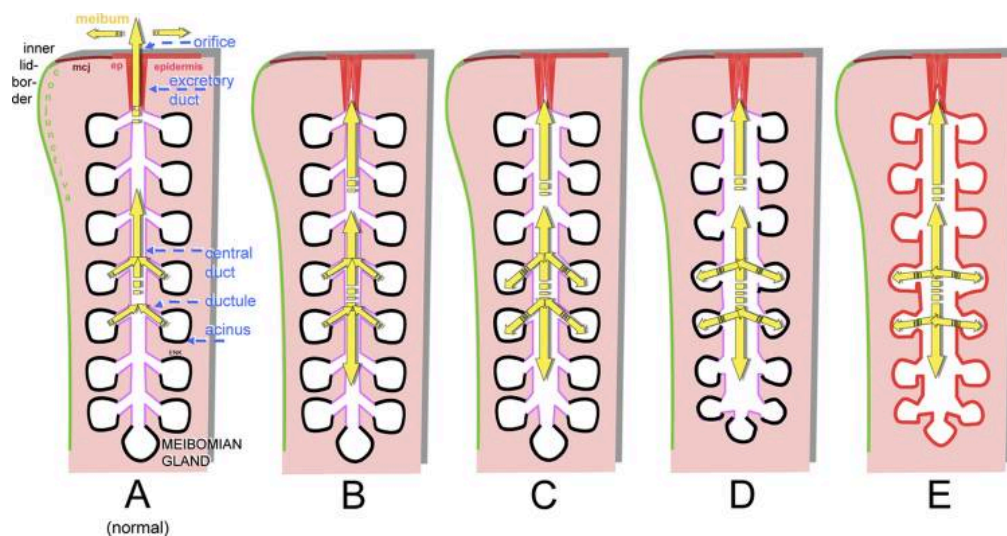
Dentro de los diferentes tipos de MGD la forma más común es la obstructiva (Foulks y Bron, 2003), que puede tener un origen cicatricial o CMGD (del inglés, *Cicatricial Meibomian Gland Disease*), o no cicatricial denominada MGD simple o SMGD (del inglés, *Simplex Meibomian Gland Disease*), lo que puede observarse en la Figura 1.10.



**Figura 1.10. Fisiopatología de la disfunción de las glándulas de Meibomio (MGD) (Craig et al., 2017 B).**

En la MGD obstructiva, a diferencia de un sujeto sano, que podemos ver en la Figura 1.11 A, donde los acinos son esféricos, los ductúlos finos, y se produce una correcta excreción del *meibum* sobre el margen palpebral, la hiperqueratinización del borde del párpado y/o un

incremento en la viscosidad del *meibum* produce una obstrucción del orificio que reduce o inhibe totalmente su salida (Figura 1.11 B) (Knop et al., 2011).



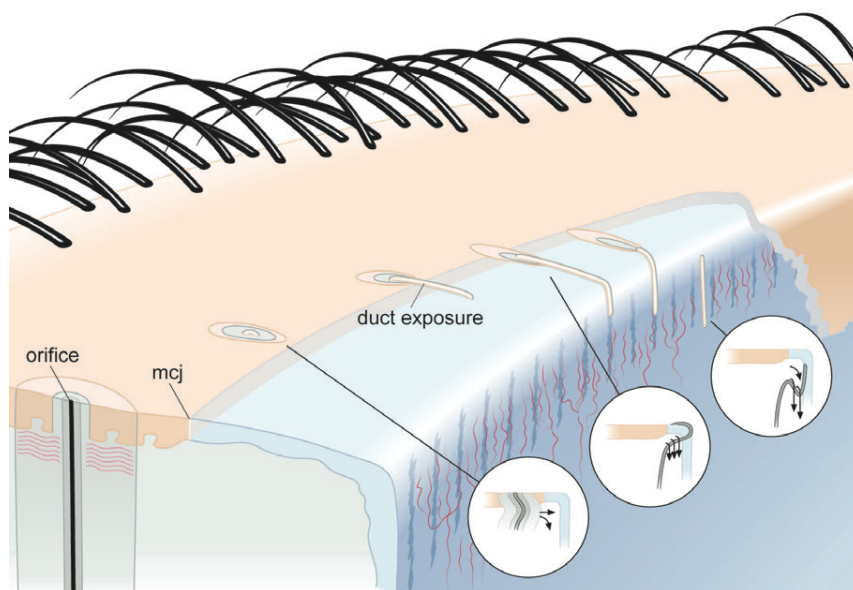
**Figura 1.11. Dibujo esquemático de la sección del borde del párpado y una glándula de Meibomio, que representa el curso de las alteraciones estructurales que se producen en éstas con el desarrollo de la disfunción obstructiva (Knop et al., 2011).**

Como consecuencia de la continua secreción del *meibum* en los acinos se genera un incremento en la presión interna de la glándula, que de forma previa la conduce a una dilatación gradual del conducto central (Figura 1.11 C). Tal como se aprecia en la Figura 1.11 D, después de un tiempo prolongado, el aumento de la presión que continúa en el interior de la glándula produce la dilatación de los ductúlos conectores y la atrofia de los acinos. Finalmente (Figura 1.11 E), todo el epitelio ductal se cornifica, siendo reemplazados los meibocitos por epitelio estratificado escamoso. (Knop et al., 2011)

En la CMGD, una de las manifestaciones más tempranas es que los orificios pueden ser arrastrados hacia el interior de la mucosa marginal hasta finalmente situarse sobre la placa tarsal, lo que puede provocar que los orificios se elonguen de forma oval, tal como se aprecia en la Figura 1.12. Este proceso cicatricial normalmente se acompaña a su vez con la exposición de la parte terminal del conducto principal de las MGs, que puede apreciarse en el borde marginal del párpado como una línea elevada que parte del orificio y discurre recta de forma perpendicular hacia la línea del párpado. El avance de esta dilatación cistoide que se produce en el conducto

## INTRODUCCIÓN

hace que finalmente se pueda llegar a que el orificio se reposicione en el tarso interno del párpado.(Foulks y Bron, 2003)



**Figura 1.12. Dibujo en el que se aprecia el cambio fisiológico que se produce en los procesos cicatriciales de la disfunción de las glándulas de Meibomio: elongación del orificio, exposición del conducto y finalmente nueva posición hacia el tarso interno del orificio de las glándulas de Meibomio (Foulks y Bron, 2003).**

Hay que tener en cuenta que tanto la SMGD como la CMGD pueden presentarse por sí mismas en su forma primaria, o en su forma secundaria ser consecuencia de diferentes desórdenes sistémicos, entre los que se incluyen en particular algunas enfermedades comunes de la piel, como el acné rosácea, la dermatitis seborreica o la dermatitis atópica, así como también otros desórdenes cicatriciales conjuntivales, como los producidos por el tracoma, el síndrome de Stevens-Johnson, el penfigoide ocular (Tomlinson et al., 2011), la psoriasis, o la ictiosis (Bron et al., 2017). También pueden ser secundarias a otras alteraciones genéticamente determinadas como la agenesia y distiquiasis de las MGs, displasia ectodermal, epidermolisis bullosa, el síndrome de Turner, o el síndrome de Ectrodactilia.

Por otro lado, la MGD también puede estar acompañada de inflamación de la glándula, denominada Meibomitis, o no estar acompañada de inflamación.

Por último, la MGD puede ser clasificada en función de si es focal, afectando una glándula aislada, o si es difusa, afectando a la mayoría de las MGs en algún grado. Dado que la relevancia clínica de la enfermedad dependerá del número de MGs involucradas, es importante que en su



diagnóstico se tengan en cuenta tanto datos cuantitativos como cualitativos.(Tomlinson et al., 2011)

### 1.2.4. Epidemiología

#### 1.2.4.1. Prevalencia

Partiendo de la base que el diagnóstico de la enfermedad de ojo seco a nivel mundial es heterogéneo en función de factores como la edad, el sexo o la raza de la muestra, los cuestionarios de síntomas utilizados y/o los signos clínicos tenidos en cuenta, así como los criterios de corte establecidos, en el último meta-análisis realizado por el subcomité de epidemiología del informe DEWS II (Stapleton et al., 2017) sobre la abundante bibliografía existente publicada hasta septiembre de 2015, se establece un rango de prevalencia del DED entre un 5% (Schaumberg, Dana, Buring y Sullivan, 2009) a un 50% (Guo et al., 2010) para aquellos estudios que incluyen síntomas, con o sin signos. En los estudios donde principalmente se utilizaban como criterio diagnóstico los signos, este porcentaje podía incluso elevarse hasta el 75% en algunas poblaciones asiáticas (Stapleton et al., 2017).

En este último meta-análisis (Stapleton et al., 2017) se encontró que la prevalencia de los signos de ojo seco era mayor y más variable que la de los síntomas, incrementándose de forma significativa con la edad, pero de mayor forma también la de los signos que la de los síntomas de DED. Este incremento de la prevalencia con la edad, que se estima lineal, varía entre el 2.0% y el 10.5% por década, dependiendo de los criterios diagnósticos y metodología utilizada. También establece que las mujeres tienen mayores tasas de prevalencia que los hombres (entre 1.3 - 1.5 veces más) y que éstas son mayores en asiáticos que en caucásicos.

Según los últimos datos en España, en un estudio de presencia de síntomas y al menos un signo concreto de DED (Viso, Rodríguez-Ares y Gude, 2009), la tasa de prevalencia para una población mayor a 40 años se sitúa en el 11.0% (95% IC 8.6-13.3%), siendo más frecuente en mujeres (11.9%, 95% IC 8.8-15.1%) que en hombres (9.0%, 95% IC 5.6-12.3%) y demostrándose significativamente relacionada con el envejecimiento ( $p < 0.001$ ).

Más allá de la necesidad de estudios estandarizados a nivel global que permitan ampliar la información geoglobal que se tiene de la prevalencia del DED, es importante señalar que hay otros factores que pueden modificarla, como la situación geográfica (latitud, longitud,



## INTRODUCCIÓN

elevación...), el clima (temperatura, humedad relativa, viento...), y otros factores medioambientales (Stapleton et al., 2017).

En el mundo occidental, la causa más frecuente de ADDE es la infiltración inflamatoria de la glándula lagrimal, que se da de un modo más grave en el DED asociado a trastornos autoinmunes (como el SS) y, con una menor gravedad, en el no SS (Craig et al., 2017 B). En un ratio de 9:1 de mujeres frente a hombres, el SS lidera las formas más severas de la DED (Bron et al., 2017).

La tasa de prevalencia a nivel global basada en signos de la MGD recogidas en el meta-análisis realizado por el subcomité de epidemiología en el informe DEWS II (Stapleton et al., 2017), oscila dependiendo de los estudios entre un 30.5% a un 68.3% del *Beijing Eye Study* (Jonas, Xu y Wang, 2009), para poblaciones de más de 40 años. Los niveles de prevalencia fueron también más altos en la población asiática que caucásica, pero a diferencia del DED, la MGD no se ha podido demostrar en todos los estudios que aumente con la edad. En cualquier caso, a través del meta-análisis realizado de todos los estudios previos de prevalencia a nivel mundial, se establece un incremento de un 5.3% por década. No se encontraron diferencias significativas entre sexos, aunque los valores de prevalencia de MGD por décadas eran ligeramente mayores en los hombres.

En el caso del Estudio Español de Salnés (Viso et al., 2012), la asociación de la MGD con la edad quedó particularmente demostrada ( $p = 0.000$ ), y aportó una tasa de prevalencia del 21.9% (95% IC 18.8-25.3%) en su forma asintomática, y de 8.6% (95% IC 6.7-10.9%) en la sintomática, demostrándose mayor en hombres que en mujeres ( $p = 0.003$ ).

### 1.2.4.2. Incidencia

En estudios como el *Beaver Dam Eye Study* (Moss, Klein y Klein, 2008), realizado a una población caucásica de entre 48 y 91 años, la tasa de incidencia a 10 años hacia la forma sintomática del DED se establece en el 21.6% (95%CI 19.9-23.3%), siendo significativamente mayor en mujeres (25%) que en hombres (17.3%). Estima una tasa de incremento de la incidencia de DED por década de edad en 1.2x (1.1-1.3).

En la parte del estudio *Twins UK* (Vehof, Kozareva, Hysi y Hammond, 2014) realizado con los mismos criterios sintomatológicos que el *Beaver Dam Eye Study*, pero sobre mujeres de entre 20

y 87 años durante un periodo de dos años años, se estableció una tasa de incidencia del 10.4% (95% IC, 9.1-11.7%).

### 1.2.4.3. Factores de riesgo

Siguiendo la clasificación de relevancia propuesta en el informe del subcomité de epidemiología TFOS DEWS, seguida 10 años más tarde en el TFOS DEWS II (Stapleton et al., 2017), en la recopilación de datos relativos a estudios que han analizado diferentes factores de riesgo del DED, podemos diferenciar tres tipos:

Consistentes: la mayoría de los potentes estudios de este factor de riesgo demuestran un aumento en la prevalencia del DED: edad, sexo femenino (sobre todo con el aumento de la edad (Craig et al., 2017 B)), raza asiática, MGD, enfermedades del tejido conectivo, uso de lentes de contacto, trasplante de células madre, Síndrome de Sjögren, exposición medioambiental (polución de zonas urbanas, Síndrome del edificio enfermo, viento, baja humedad y altitud elevada), uso prolongado de pantallas visuales, déficit de vitamina A (queratomalacia), deficiencia de andrógenos, medicación, terapia de sustitución hormonal, retinoides, antihistamínicos, antidepresivos y ansiolíticos.

Probables: no puede establecerse una asociación de una forma clara en: diabetes, rosácea, infección viral, trastornos tiroideos, pterigium, conjuntivitis alérgica, baja ingesta de ácidos grasos, cirugía refractiva LASIK (del inglés, *LASER In Situ Keratomileusis*), condiciones psiquiátricas (ansiedad, depresión, estrés, y sus tratamientos farmacológicos), condiciones sistémicas (migrañas y diversos síndromes como el de dolor crónico, dolor pélvico, o colon irritable), y medicación (anticolinérgicos, diuréticos y beta-bloqueantes).

No concluyentes: basados en estudios que presentan algún tipo de deficiencia en cuanto a su revisión por pares, conflicto de intereses, o información inconclusa, encontramos: etnia Hispana, menopausia, acné, sarcoidosis, tabaquismo, alcoholismo, embarazo, infestación por Demodex, inyecciones de toxina botulínica, medicación (multivitamínicos y contraceptivos orales).

De otro lado, es importante reseñar la susceptibilidad genética como otro factor de riesgo moderado asociado a la DED. En un amplio estudio realizado con personas gemelas en el Reino Unido (Vehof et al, 2014) se estableció una probabilidad de heredar los síntomas en un 29%

(95% IC 18-40%), llegando este porcentaje al 41% (95% IC 26-56%) en el caso de realizarse el diagnóstico por parte de un profesional del cuidado visual.

#### 1.2.4.4. Impacto y morbilidad

Según los datos publicados en el autodenominado informe TFOS i2 (Chao et al., 2016), la DED es una de las principales condiciones patológicas oftalmológicas, liderando los motivos de consulta hospitalaria.

Desde un punto de vista socio-económico, produce numerosos gastos asociados a la visita, el coste de las pruebas y los tratamientos, lo que a su vez puede repercutir unido a otros factores en una baja productividad laboral de los pacientes y un empeoramiento en su calidad de vida (Stapleton et al., 2017). En estudios que analizan la carga económica de la asistencia sanitaria del DED en países europeos, por cada 1000 habitantes, ésta oscila entre los 0.27 millones USD de Francia a los 1.10 millones USD de Gran Bretaña, situando a España en 0.76 millones USD (Clegg, Guest, Lehman y Smith, 2006), aunque hay que tener en cuenta que los tratamientos y costes pueden variar entre los países, y que este rango se amplía en otros países. Otros que calculan el impacto económico en la productividad, a modo de ejemplo, un estudio (Uchino et al., 2014) realizado en Japón sobre pacientes que trabajaban con VDTs (del inglés, *Visual Display Terminal*), cifran un coste de 6160 USD por habitante y año.

Desde el punto de vista de la salud y de la calidad de vida, las evidencias disponibles, recogidas en el resumen de estudios realizado en el informe del subcomité de epidemiología del DEWS II (Stapleton et al., 2017), sugieren que los pacientes que se ven afectados por el DED sienten dolor, irritación y alteración de la percepción visual, lo que a su vez puede producir respectivamente: problemas psicológicos (Li, Gong, Chapin y Zhu, 2012) (depresión, ansiedad y estrés), de afectación de la salud ocular, y de restricción de ciertas actividades eminentemente visuales de la vida diaria.

La integridad del film precorneal lagrimal es esencial para una correcta función visual. Su inestabilidad, o las irregularidades en la superficie corneal debidas a daños epiteliales provocados por su desecación pueden provocar aberraciones de alto orden, que disminuyen la calidad visual del paciente, lo que ha quedado demostrado en estudios que analizan la función de transferencia de modulación o MTF (del inglés, *Modulation Transfer Function*) tras el parpadeo. (Koh et al., 2006; Denoyer, Rabut y Baudouin, 2012)

### 1.3. Diagnóstico del ojo seco

#### 1.3.1. Protocolos diagnósticos establecidos

En la última definición de la DED (Craig et al., 2017 A) es de destacar la introducción del término “homeostasis de la película lagrimal”. La Real Academia de la Lengua ([www.rae.es](http://www.rae.es)), define la homeostasis como el “conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al manteniendo de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo”.

Entre las pruebas que se consideran marcadores de esta pérdida de la homeostasis de la película lagrimal se establecen tres: el tiempo de ruptura lagrimal, la osmolaridad lagrimal y los teñidos de la superficie ocular. La alteración en alguno de estos signos, unida a la presencia de síntomas son considerados como test diagnósticos de la DED (Wolffsohn et al., 2017), como podemos ver en la Figura 1.13.

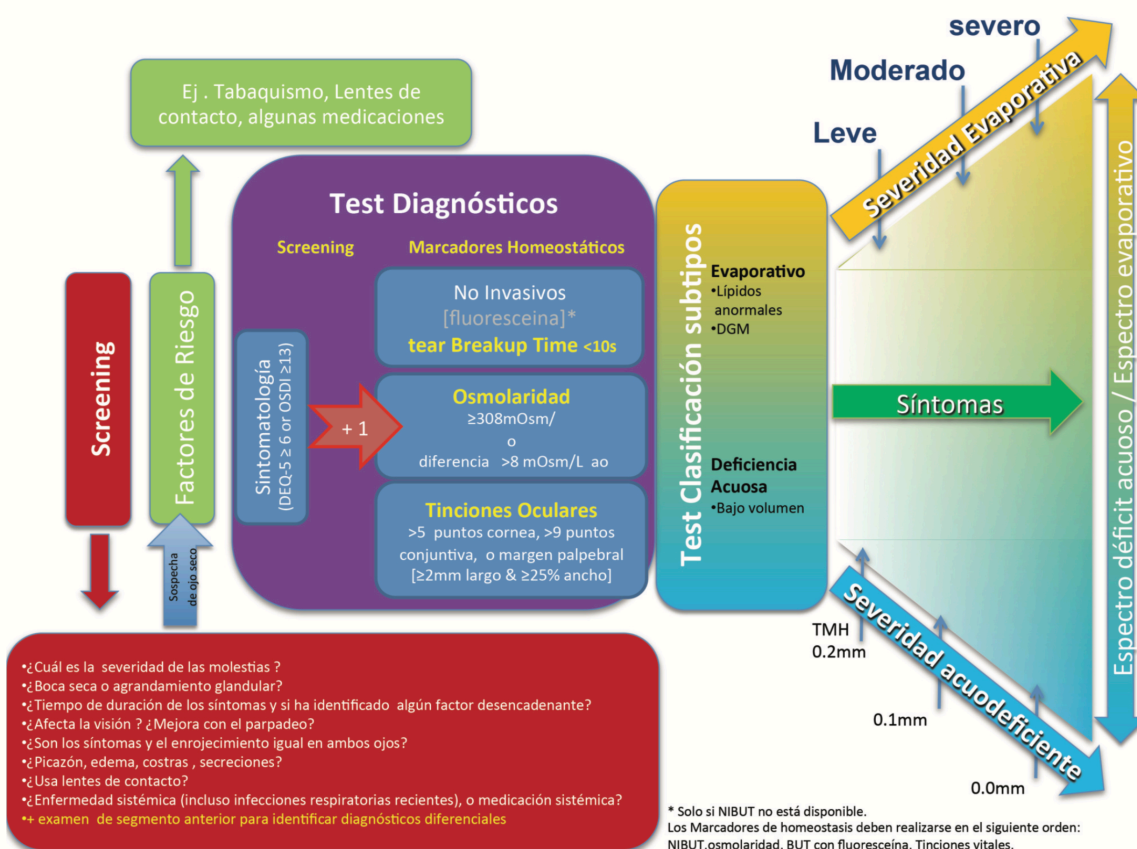


Figura 1.13. Esquema que representa la batería de pruebas recomendada en el informe del subcomité de metodología de diagnóstico de ojo seco del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017).

Hay que tener en cuenta que la presencia de síntomas específicos puede hacer sospechar de la existencia de la enfermedad, pero la ausencia de éstos no debe descartarla (Sullivan et al., 2014). Además, los signos característicos pueden también estar presentes o no, y cada uno de los subgrupos resultantes deben ser tratados de manera diferente, tal como se refleja en la parte superior del esquema de clasificación de la Figura 1.8 (Craig et al., 2017 A); figura donde puede observarse también que se distinguen dos tipos de dolor, el nociocéptico, producido en respuesta al daño real y la amenaza de daños a los tejidos, y el neuropático, como consecuencia de una lesión en el sistema somatosensorial, también conocido como dolor patológico, y que evidentemente no se considera dentro del grupo de los DED (Craig et al., 2017 B).

Ante la sospecha de DED, como se señala en el informe del subcomité de diagnóstico del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), es importante que de forma previa se realice un triage de preguntas que permita sospechar de otras condiciones oculares con similares signos y síntomas que el DED, debidas a otras OSD (que detallaremos en el siguiente punto), normalmente enfermedades alérgicas, infecciosas u otras condiciones inflamatorias. El resto de las pruebas han dirigirse, en primer lugar a confirmar el diagnóstico, comprobando si en cualquiera de los ojos se produce una reducción del tiempo de ruptura lagrimal no invasivo, una elevación de la osmolaridad lagrimal o gran disparidad entre las medidas entre ambos ojos, y/o tinciones de la superficie ocular, para después realizar pruebas adicionales que permitan averiguar su subtipo predominante dentro del espectro EDE-ADDE y su etiología, en función de la estabilidad lagrimal, la dinámica-grosor de la capa lipídica, el volumen lagrimal, y/o la presencia de MGD. Finalmente, y en base a todo lo anterior, debe poder establecerse la gravedad de la enfermedad, para su adecuado tratamiento y posterior monitorización (Craig et al., 2017 B).

### **1.3.2. Diferenciación con otras enfermedades de la superficie ocular**

Las OSD están asociadas con alteraciones en la integridad de la córnea y/o la conjuntiva (Bron et al., 2017). Tal como se ha adelantado en el punto anterior, ante la sospecha de DED es necesario descartar cualquier otro tipo de OSD que puedan presentar síntomas o signos parecidos. Por tanto, el diagnóstico de la DED primaria requiere que sus manifestaciones sean distinguidas de otras alteraciones de la superficie ocular, para lo que debe emplearse un cuestionario específico para aislar otras patologías, incluyendo antecedentes familiares o personales de enfermedades oculares o sistémicas que puedan estar relacionadas, medicación y otros parámetros

## INTRODUCCIÓN

medioambientales. Para evaluar los signos algunas veces es necesario realizar determinadas pruebas específicas, y/o utilizar un sistema de ampliación de imagen, muchas veces acompañado necesariamente de la instilación de tinciones en la superficie ocular, que permitan observar las particularidades que las principales patologías inducen en las estructuras visibles que componen la unidad funcional lagrimal.(Wolffsohn et al., 2017)

Las principales OSD que pueden presentar comorbilidad con la DED, además de las secundarias a enfermedades sistémicas que hemos adelantado previamente para cada uno de los componentes de la unidad funcional lagrimal, son variadas en función de su etiología o localización.

De entre estos casos secundarios de la DED, se denomina ojo seco iatrogénico al derivado de la acción indirecta en involuntaria de determinados fármacos, como los conservantes en usuarios de lentes de contacto (cloruro de benzalconio) y el propio uso de las lentes de contacto.

Entre los causados por tratamientos médicos sistémicos podemos encontrar varias categorías, como los analgésicos (antirreumáticos, cannabioides y opiáceos), la anestesia, los anticolinérgicos (antiarrítmicos, broncodilatadores, antihistamínicos, antidepresivos, párkinson, antipsicóticos, antiespasmódicos y descongestivos), antihipertensivos (bloqueantes adrenérgicos y diuréticos), tratamientos contra la lepra o la malaria, antineoplásicos, ansiolíticos, reguladores de calcio, depresores, hiervas y vitaminas, hormonales, neurotoxinas y calmantes.

Entre los causados por tratamientos tópicos podemos encontrar: agonistas adrenérgicos, antialérgicos, antivirales,  $\beta$ -bloqueadores, inhibidos de la anhidrasa carbónica, agonistas colinérgicos, descongestivos, mióticos, midriáticos y ciclopégicos, prostaglandinas, anestésicos tópicos locales, y fármacos tópicos oculares antiinflamatorios no esteroideos. Aunque también habría que incluir como causantes de DED iatrogénico los derivados de intervenciones quirúrgicas, como la cirugía refractiva LASIK o la queratoplastia, y en menor medida la cirugía de cataratas o de párpados, y la aplicación de toxina botulínica.(Craig et al., 2017 B)

Entre las afecciones corneales primarias, además de la queratitis neurotrófica que ampliaremos seguidamente, podemos encontrar otras queratopatías que pueden presentar comorbilidad con el DED, como las queratitis filamentosa, intersticial y bullosa (Wolffsohn et al., 2017).

## INTRODUCCIÓN

Pueden presentarse también diferentes formas de conjuntivitis alérgicas, asociadas o no a patología corneal, con similitudes clínicas a menudo muy parecidas al DED (Wolffsohn et al., 2017). Destacamos entre ellas la conjuntivitis alérgica estacional (CAE) o la perenne (CAP), la queratoconjuntivitis atópica (QCA) o la vernal (QCV), la conjuntivitis papilar gigante (CPG), y la dermatconjuntivitis de contacto (DCA).

Otro grupo serían las infecciones oculares, entre las que podemos encontrar las producidas por virus, bacterias, o las infestaciones por parásitos. Aunque todas ellas pueden alterar de diferentes formas la superficie ocular, y por ello la TFL y el menisco lagrimal, presentan síntomas y signos característicos, tanto oculares como sistémicos, que permiten su diagnóstico.

Podemos incluir también las afecciones del párpado entre las que destaca la blefaritis, que es una inflamación de los párpados que puede ser el resultado de una infección o una reacción alérgica a agentes externos (Wolffsohn et al., 2017). Autores como McCulley, Dougherty y Deneau en 1982, la dividen en blefaritis anterior cuando afecta a la región de las pestañas, y blefaritis posterior cuando afecta a las MGs, además de tener en cuenta en función de sus signos, si es producida por la infección más común por estafilococos *Aureus* o por seborrea. Por otro lado, la blefaritis posterior es usada como sinónimo de la MGD, y ambas se consideran condiciones crónicas (Foulks y Bron, 2003), pero la MGD es sólo una de las muchas causas de la blefaritis posterior (Tomlinson et al., 2011). Según el informe del subcomité de diagnóstico de la MGDW (Tomlinson et al., 2011), las enfermedades del párpado pueden clasificarse en diferentes tipos: Podemos encontrar pacientes que presenten un reducido número de glándulas, normalmente debido a deficiencias congénitas. En el caso de las deficiencias adquiridas, además de la SMGD y CMGD que ya describimos anteriormente, una de las enfermedades que se pueden producir es la sustitución de la MG, en la que puede observarse distiquiasis o aparición de una nueva fila de pestañas en el lugar que debería ocupar la glándula, o en último extremo debida a una enfermedad metaplásica de ésta. Otro de los grupos de enfermedades abarcaría el grupo de las MGD en su forma hipersecretoria, denominada seborrea meibomiana, o hiposecretoria, que puede producirse por toxicidad a los retinoides.

También pueden encontrarse concreciones, y otras afecciones como el orzuelo, que produce inflamación focal del párpado debido a una infección en las glándulas de Zeiss, así como también pueden encontrarse enquistamientos de las glándulas de Meibomio, denominados chalazión (Wolffsohn et al., 2017). Para terminar, otra de las afecciones del párpado que pueden

## INTRODUCCIÓN

tener como resultado queratopatía por exposición (Wolffsohn et al., 2017), son las relacionadas con alteraciones en el sellado del párpado, como el lagofthalmos, bien durante el sueño, o bien por un parpadeo incompleto diurno o porque los párpados presenten deformidades, debidas a parálisis del VII par craneal, o posterior a cirugía de los párpados (Bron et al., 2017), aunque podríamos incluir también en este grupo a otras enfermedades, como la orbitopatía de Graves, que puede producir exoftalmos, con retracción del párpado, parpadeo incompleto, y restricción del movimiento ocular (Bron et al., 2017), y finalmente los traumatismos oculares u orbitales, que pueden producir daño en la estructura y funcionalidad palpebral.

Además, de lo indicado en los puntos anteriores relacionados con patologías en la inervación, habría que añadir otras afecciones en la inervación sensorial y motora que pueden producir DED. Podríamos citar la producida por pérdida de sensibilidad por daño del nervio trigémino, o bloqueo secretomotor por daño en la inervación parasimpática de la glándula lagrimal, que pueden ser debidos a cirugía o trauma; el síndrome de Riley Day, o desorden autonómico recesivo debido a una mutación genética, cuyas manifestaciones desde el nacimiento son una marcada carencia del lagrimeo emocional y reflejo, con una insensibilidad generalizada en el cuerpo al dolor, producido por un defecto progresivo en la inervación simpática y parasimpática de la glándula lagrimal y de la inervación sensorial de la superficie ocular; la queratitis neurotrófica, que es una rara enfermedad corneal caracterizada por un descenso o ausencia de sensibilidad corneal, que se extiende al globo ocular, al párpado superior y a la mucosa nasal, y que aunque puede tener su origen en numerosas enfermedades oculares y sistémicas, la forma más común es por infección viral, la mayoría de las veces por herpes Zoster afectando a la rama oftálmica del nervio trigeminal (anunciándose través de un sarpullido zoosteriforme en la raíz nasal), y rara vez por herpes Simple, o como consecuencia de cirugía de la neuralgia trigeminal.(Bron et al., 2017) Y por último, mencionar que la alteración molecular, estructural o funcional del nervio trigémino puede inducir también dolor neuropático (Belmonte et al., 2017).

Para terminar, podríamos añadir los casos relacionados con el DED producidos por enfermedades con origen sistémico como el blefaroespasmó, que se caracteriza por una espontánea, excesiva, intermitente o constante, contracción de los músculos periorbitales (principalmente el orbicular), sin una causa aparente; el síndrome de Meige, donde estos espasmos se extienden incluyendo otros músculos faciales, la lengua, la faringe, y los músculos cervicales; enfermedades como el párkinson, o el trabajo continuado con ordenadores, que



pueden también afectar el ratio de parpadeo (Wolffsohn et al., 2017); los pacientes con diabetes *mellitus*, que presentan evidencias tanto de una reducción de la estabilidad como de la secreción lagrimal; la pseudoexfoliación, que es un desorden en la lámina basal que se incrementa con la edad y se caracteriza por la acumulación de grupos de microfibrillas en la superficie de la cápsula del cristalino, cuerpo ciliar, iris, malla trabecular y conjuntiva, y cuyos pacientes tienen medidas significativamente menores en la producción y estabilidad lagrimal, así como alteración de la morfología de las células de Goblet. (Bron et al., 2017)

### **1.3.3. Pruebas de detección**

Es numerosa la bibliografía existente sobre diferentes test de sintomatología, así como sobre pruebas de valoración de signos. Con el ánimo de hacer relación de las más destacadas, a continuación, en este estudio se mostrarán de forma muy breve las recogidas en el último informe del subcomité sobre metodología diagnóstica del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), donde se proponen las pruebas y criterios de corte más eficaces para el diagnóstico de la DED en ensayos clínicos, y su posterior clasificación en función de su subtipo etiopatológico predominante.

#### 1.3.3.1. Síntomas

Son numerosos los cuestionarios reconocidos a nivel internacional para cuantificar la sintomatología, bien destinados a la población general o específicos para usuarios de lentes de contacto, que varían entre ellos en función de diversos aspectos analizados, como la frecuencia e intensidad de las molestias en la superficie ocular, el impacto del DED en la calidad de vida, e incluso factores desencadenantes ambientales que puedan sufrir los encuestados.

El TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017) destaca (a modo de la abreviatura por la que son conocidos) los siguientes: DEQ, DEQ-5, DEQ5, IDEEL, MQ, OCI y OCI-C, OSDI, SANDE, SPEED, CLDEQ, CLDEQ-8, y CLIQ.

De entre todos estos cuestionarios el más comúnmente utilizado es el OSDI (*The Ocular Surface Disease Index*©, Allergan Inc., Irvine, CA, EE.UU), presentado en 1997 (Walt, Rowe y Stern, 1997), y recomendado por estar ampliamente contrastado con otros de los test existentes, además de ser breve y haberse demostrado reproducible (Wolffsohn et al., 2017).

#### 1.3.3.2. Alteraciones visuales

Podemos agruparlos en tres grupos de pruebas:

## INTRODUCCIÓN

Los test de medida subjetiva de alteración visual, entre los que el propio test OSDI incluye seis de sus preguntas que permiten gradar la función visual (problemas para la lectura, conducción nocturna, trabajar con un ordenador, o viendo la TV) y la alteración en la visión (borrosa o pobre), que el paciente refiere. Preguntas que han de considerarse importantes, ya que según algunos estudios (Li, Gong, Chapin y Zhu, 2012), un grupo de pacientes con DED presentaban peores resultados tanto en esta subescala en particular como en el cómputo total del test. Aunque hay otros test de sintomatología que permiten medir también la alteración visual del paciente, como (en sus abreviaturas) el DEQ-5 o el IDEEL; y otros tests como el NEI VFQ-25, el DEQS, o el CVSS17, que además en algunos casos amplían la información sobre otros aspectos que también se han demostrado relacionados con la DED, como la deficiente visión lejana y cercana, la salud mental del paciente, o el uso de frecuente de ordenadores (Wolffsohn et al., 2017).

Entre los test funcionales de los que se ha encontrado evidencia que se ven afectados por el DED, encontramos la medida estática de la agudeza visual de los pacientes con optotipos ETDRS (del inglés, *Early Treatment Diabetic Retinopathy*) para distancia lejana y el *Lighthouse* para cercana. Aunque también podemos encontrar diferentes dispositivos que analizan la agudeza visual dinámica del sujeto o FVA (del inglés, *Functional Visual Acuity*), durante un intervalo de 10-20 segundos con la ayuda de anestesia, lo que provoca irregularidades en la superficie ocular que inducen aberraciones de alto orden en los polinomios de Zernike u HOAs (del inglés, *High Order Aberrations*). (Wolffsohn et al., 2017)

El tercer grupo serían los test objetivos de alteración visual. Entre los citados en el informe del subcomité de metodología y diagnóstico del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017) para la cuantificación de la alteración visual, encontramos la aberrometría de frente de ondas y el análisis de la dispersión de luz con la ayuda de una cámara de Scheimpflug.

### 1.3.3.3. Estabilidad de la película lagrimal

Han sido propuestas un gran número de pruebas, diferentes técnicas, y diversos puntos de corte, que se usan como indicadores de la estabilidad de la película lagrimal (Wolffsohn et al., 2017):

El ratio de evaporación lagrimal mide, a través de diferentes técnicas, como la presión de gradiente de vapor o la velocidad del incremento relativo de humedad, el aumento en la evaporación de la película lagrimal que se produce por una deficiente capa lipídica. Es, junto a la termografía, un método novedoso, pero con escasa implantación clínica. (Willcox et al., 2017)

La termografía aprovecha la disminución de temperatura en la superficie ocular que se produce por la evaporación de la película lagrimal (Craig et al., 2000) para medir, a través del análisis del

## INTRODUCCIÓN

espectro infrarrojo, los cambios espaciales y temporales producidos durante el periodo entre parpadeos.

La variabilidad en la osmolaridad analiza la variación inter-ojo que se produce en la osmolaridad lagrimal en el espacio-tiempo, que se ha demostrado mayor en los casos con EDE (Jacovi, Jacovi, Kruse y Cursiefen, 2011), y cuyas diferencias además aumentan con el grado de severidad de la enfermedad (Lemp et al., 2011). Algunos autores (Sullivan, 2014) defienden que diferencias entre ojo más allá del umbral de 8 miliosmoles por litro (mOsm/L) deben ser consideradas como un indicador de la pérdida de la estabilidad de la película lagrimal que ocurre con la DED.

El tiempo de ruptura lagrimal o TBUT (del inglés, *Tear Film Break-Up Time*), es el método más ampliamente utilizado y recomendado (Wolffsohn et al., 2017) para valorar la estabilidad de la película lagrimal. Se define como el intervalo de tiempo transcurrido desde un parpadeo completo y la aparición de la primera ruptura en la película lagrimal (Lemp, Holly, Iwata y Dohlman, 1970), que puede visualizarse instilando fluoresceína o FBUT (del inglés, *Fluorescein Break-Up Time*), o de forma no invasiva o NIBUT (del inglés, *No Invasive Break Up Time*), a través de diferentes métodos propuestos. La fluoresceína reduce la estabilidad de la película lagrimal, por lo que también se recomienda aumentar la consistencia de las pruebas estandarizando la metodología y preferiblemente utilizando técnicas no invasivas (Wolffsohn et al., 2017). En el caso de la FBUT, el valor de corte de referencia tradicionalmente aceptado para el diagnóstico de la DED es que sea inferior a 10 segundos (Lemp y Hamill, 1973), lo cual explica que típicamente, en el caso del NIBUT este valor suele ser mayor (Hirji, Patel y Callander, 1989), con una diferencia media reportada de 3.7 segundos (Nichols et al., 2002). La mayoría de estas técnicas no invasivas se sustentan en la observación de la reflexión especular de un patrón de rejilla proveniente de la película lagrimal (Nelson et al., 2011), aunque en la actualidad se han desarrollado sistemas automatizados de análisis de la estabilidad lagrimal basados en los cambios topográficos medidos en el tiempo a través de videoqueratografía (Goto, Zheng, Okamoto y Ohashi, 2004). Incluso puede llegar a realizarse una valoración automática con instrumentos como el Keratograph (*Oculus, Wetzlar, Germany*) (Hong et al., 2013), y con el CA-800 o el Myah (*Topcon, TKY, Japan*), que en ambos casos el fabricante denomina “tiempo de ruptura lagrimal”, mostrando secuencias de imágenes con colores superpuestos sobre los anillos concéntricos reflejados por un disco de Plácido, valorando la calidad de la superficie corneal en el lapso entre parpadeos, y permitiendo incluso establecer de forma automática el índice denominado OPI, que relaciona el tiempo de ruptura con la frecuencia de parpadeo. Como

últimos desarrollos, la videoqueratografía de alta velocidad analiza la varianza en el número de anillos observados a través del E300 *Corneal Topographer* (Medmont International Pty Ltd., Victoria, Australia), que proporciona un enfoque diferente al TBUT y que denomina "Tear Film Surface Quality Break-Up Time" (Downie, 2015).

#### 1.3.3.4. Volumen lagrimal

Aunque no está incluido en la última definición de DED de forma expresa, el volumen lagrimal es un factor importante para mantener la homeostasis de la película lagrimal, y puede ser la llave para detectar determinados mecanismos patogénicos, así como servir como signo diagnóstico en el ADDE, siendo su cuantificación posible a través de diferentes métodos (Wolffsohn et al., 2017).

La meniscometría consiste en el análisis de los parámetros del menisco lagrimal. Los parámetros comúnmente aceptados, que además se han demostrado correlacionados con otros test de DED son: la altura o TMH (del inglés, *Tear Meniscus Height*), la curvatura o TMR (del inglés, *Tear Meniscus Radius*), o el área de una sección transversal o TMA (del inglés, *Tear Meniscus Area*) (Wolffsohn et al., 2017); aunque otros trabajos también estudian incluso la profundidad (Golding, Bruce y Mainstone, 1997; Qiu et al., 2012), el volumen a lo largo del párpado (Chen et al., 2010; Fukuda et al., 2013), o el ángulo de contacto de la cara externa del menisco y la córnea ( $\infty$ ) (Zhou et al., 2009).

La lámpara de hendidura permite desde antaño la medida de TMH por comparación (del tamaño del haz de luz o con micrómetros acoplados) con la ayuda de fluoresceína, pero en la evolución de la técnica han ido apareciendo otros dispositivos acoplados a ésta, basados en la proyección y análisis de la reflexión de una serie de bandas blancas y negras sobre la cara externa del menisco, lo que ha permitido medir también TMR evitando la alteración lagrimal producida al instilar fluoresceína. Los primeros instrumentos realizaban la medida a través de un módulo específico (video-meniscometría) acoplado a la lámpara (Yokoi et al., 1999; Yokoi, Bron, Tiffany y Kinoshita, 2000; Oguz, Yokoi y Kinoshita, 2000), aunque en la actualidad existen eficaces sistemas portátiles que proyectan estas bandas con la ayuda de aplicaciones para tabletas digitales (Banditz et al., 2014; Banditz, Purslow, Murphy y Pult, 2014). En estos estudios, tanto TMH como TMR se han demostrado correlacionadas y recomendables para la medición del volumen lagrimal (Wolffsohn et al., 2017). En instrumentos más recientes, como el Myah (*Topcon, TKY, Japan*), es posible incluso la medida semiautomática de TMH, incluso en diferentes posiciones a lo largo del borde del párpado inferior y obtener su altura media.

## INTRODUCCIÓN

Como última técnica aplicada en la meniscometría encontramos la realizada a través de la tomografía de coherencia óptica de polo anterior o AS-OCT (del inglés, *Anterior Segment Optical Coherence Tomography*), la cual ha permitido la medida de otros parámetros, como TMD, TMA, TMV y  $\alpha$ .

El test de hilo rojo fenol, que recibe el acrónimo PRT (del inglés, *Phenol Red Thread*), consiste en una fina tira de algodón impregnado en rojo fenol. Este tinte reacciona al pH fisiológico ligeramente alcalino de la lágrima (entre pH 7 y 8) (de Monchy et al., 2011), tornando de un su color amarillo original en seco a rojo.

Se realiza introduciendo un extremo del hilo bajo el tercio temporal del borde del párpado inferior, dejándolo colgar durante 15 segundos, durante los cuales se ha demostrado que es indiferente que el paciente permanezca con los ojos abiertos o cerrados (Doughty, Whyte y Li, 2007).

Tal como se señala en la recopilación de artículos realizada en el informe del subcomité de metodología y diagnóstico del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), presenta una buena repetibilidad, pues las pequeñas dimensiones del hilo inducen un limitado reflejo de lagrimeo y una baja cantidad de colorante inmerso evita el efecto irritativo. Aunque también señala que existen controversias entre diferentes trabajos sobre su capacidad diagnóstica de la DED y su correlación con otras pruebas de volumen lagrimal. Según un estudio realizado por Patel et al. (Patel, Farrell, Blades y Grierson, 1998) en pacientes diagnosticados con DED, usando un valor de corte de 20 mm, se calcula para este test una sensibilidad de un 86% y una especificidad del 83%, para la diferenciación entre sujetos acuodeficientes y no acuodeficientes.

El test de Schirmer fue propuesto en 1903 por Otto Schirmer y desde entonces es un método ampliamente utilizado en la práctica clínica e investigadora. Se realiza con la ayuda de una tira de papel secante especial de 5x35 mm, que, previamente doblada por la muesca que presenta en uno de los extremos, se cuelga del tercio temporal del borde del párpado inferior durante 5 minutos. Su valor se calcula midiendo la longitud de la tira (en milímetros) impregnada por la lágrima desde el borde del doblez.

Se puede realizar de forma directa, denominada Schirmer I, o instilando anestesia tópica (Schirmer I con anestesia), pudiéndose demostrar esta última más objetiva y fiable para reflejar el estado del DED y como valor diagnóstico en individuos con ADDE (Li, Deng y He, 2012). Otra de las variaciones de este test es el denominado Schirmer II, que se realiza con colirio

## INTRODUCCIÓN

anestésico y estimulando la mucosa nasal para provocar el reflejo naso-lagrimal. Aunque de todas ellas, la primera de las técnicas, más simple, es la más estandarizada. El Schirmer I proporciona una estimación de la secreción lagrimal basal y refleja, estimulada por el borde de la tira que permanece entre el borde palpebral y la conjuntiva bulbar. Ha de realizarse preferiblemente con los ojos cerrados para disminuir la variabilidad y aumentar la repetibilidad del test (*Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop, 2007*).

Como desarrollo del test de Schirmer, la meniscometría de tira realiza la toma de forma directa y sin contacto en el tercio temporal del menisco durante 5 segundos. Utiliza una tira desechable de 3x45 milímetros compuesta por varios materiales, con un mecanismo que permite succionar por capilaridad el volumen de lágrima existente en el menisco, cuantificando de forma visible el resultado a través de un tinte azul que representa la longitud en milímetros obtenida. Para ese test se considera una sensibilidad del 84% y una especificidad del 58%, para un valor de corte  $\leq 4$  mm. (Dogru et al., 2006)

### 1.3.3.5. Composición de la película lagrimal

El aumento de la osmolaridad indica una pérdida de la homeostasis lagrimal, lo cual se ha demostrado en numerosos estudios, donde se considera el indicador que por sí solo con más alta correlación refleja el grado de severidad de la DED (Potvin, Makari y Rapuano, 2015), por lo que se propone como una herramienta útil para diagnosticar y gradar la enfermedad (Lemp et al., 2011; Versura, Profazio y Campos, 2010). Por otro lado, se ha de recordar también que esta hiperosmolaridad lagrimal contribuye al mecanismo bioquímico y fisiopatológico que produce la apoptosis y posterior muerte celular en el epitelio de la superficie ocular (Jackson et al., 2016).

En el pasado, la osmolaridad por presión de vapor y el osmómetro de Clifton han sido los métodos comúnmente usados para medir la osmolaridad lagrimal, pero para su realización hay que extraer una muestra de lágrima suficiente, lo que es complicado en pacientes con una cantidad escasa, además de ser un proceso de medición lento y poco práctico (Potvin, Makari y Rapuano, 2015).

En la actualidad existen instrumentos como el *TearLab Osmolarity System (OcuSense, CA)*, especialmente desarrollado para, de una forma mínimamente invasiva, recoger una pequeña muestra del menisco lagrimal inferior de aproximadamente 0.2 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) en su tercio temporal, realizando su medida a través de un micro-electrodo.

## INTRODUCCIÓN

Como se vio en el apartado de estabilidad lagrimal de este trabajo, diferencias en la osmolaridad entre ojo derecho e izquierdo por encima del umbral de 8 mOsm/L son indicativas de una lágrima inestable (Sullivan, 2014), mientras una elevada osmolaridad, como vemos en este apartado, nos va a permitir diagnosticarlo y gradarlo. Según los últimos estudios (Lemp et al., 2011) debe tenerse en cuenta el valor más alto de osmolaridad de ambos ojos, ya que refleja mejor el proceso de la enfermedad, por lo que ambas alteraciones se han de tener en cuenta como indicativas de la pérdida de la homeostasis lagrimal que se da tanto en ADDE como en EDE (Bron et al., 2014).

Aunque son variados los puntos de corte propuestos en diferentes estudios (Versura, Profazio y Campos, 2010; Jacovi, Jacovi, Kruse y Cursiefen, 2011), el valor aparentemente más sensible establecido para discriminar entre pacientes normales y aquellos pacientes con DED moderado, es un umbral de osmolaridad lagrimal de 308 mOsm/L (Lemp et al., 2011). Para clasificarlo como severo se recomienda un umbral a partir de 316 mOsm/L (Wolffsohn et al., 2017).

El test de Ferning analiza de una forma simple y a grosso modo a nivel bioquímico la calidad lagrimal. Se realiza dejando secar, entre 7 y 10 minutos a una temperatura ambiente recomendada de entre 20-26 °C y con una humedad superior al 50%, una muestra de lágrima extraída al paciente en el canto externo con la ayuda de un tubo de cristal capilar y preparada sobre un cristal. La cristalización de la muestra comienza formando un núcleo que, en función de la concentración de solutos (fundamentalmente electrolitos y macromoléculas) de la muestra, prolifera con diferentes patrones (Masmali, Purslow y Murphy, 2014). A través de un simple microscopio con 10X puede observarse que en muestras de ojos sanos el patrón es denso, mientras en las de ojos secos está fragmentado o ausente. Se han ido proponiendo diversas clasificaciones basadas en la comparación de esos patrones, como la de Rolando (Rolando, Baldi y Zingirian, 1986), Norn (Norn, 1994), Vaikoussis (Vaikoussis, Georgiou y Nomicarios, 1994), o Masmali (Masmali et al., 2015), encontrándose en la mayoría de los estudios existentes elevados porcentajes de sensibilidad y especificidad para determinadas formas de ojo seco, como el asociado al SS o la queratoconjuntivitis *sicca* secundaria a enfermedad reumática, aunque en los escasos estudios existentes sobre otras formas de la DED los resultados son más variables (Wolffsohn et al., 2017). Por ello, y por la falta de un protocolo claro hasta la fecha para la realización de esta prueba, no suele emplearse en la práctica clínica (Masmali, Purslow y Murphy, 2014), ni es recomendada como test diagnóstico (Wolffsohn et al., 2017).

### 1.3.3.6. Daño a la superficie ocular

La tinción punteada de la superficie ocular es un rasgo de numerosas enfermedades oculares, por lo que habitualmente se instilan tinciones para su diagnóstico. El patrón de tinción puede darnos pista de su etiología, mientras la densidad de la tinción puede ser guía del grado de severidad de la enfermedad (*Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007). Como se expuso con anterioridad en el capítulo 1.3.2. de este trabajo, es primordial distinguir previamente el SPK (micropunteado) producido por el DED de otros patrones de teñido por otras formas de OSD.

Los tres tipos de tintes más utilizados y su concentración son: la fluoresceína sódica al 2%, el rosa de bengala al 1% y el verde de lisamina al 1%, aunque pueden encontrarse otros estudios que realizan además mezclas de éstos (Korb et al., 2008).

Al instilarse fluoresceína, ésta se hace visible en aquellas zonas de la superficie ocular donde se compromete su integridad, penetrando a través de defectos en las estrechas uniones de las células superficiales o a través de un glicocáliz defectuoso (Korb et al., 2008). Pflüger comenzó a aplicarla en conejos en 1882 para estudiar sus abrasiones corneales, siendo su uso clínico introducido en humanos por Straub en 1888, y ampliamente desarrollado por Norn en 1962 (Norn, 1962).

La tinción con rosa de bengala fue introducida por Schirmer en 1903, su uso en la actualidad es infrecuente por la severidad de la irritación que induce en el paciente (Bron, Argueso, Irkec y Bright, 2015), ya que además de escozor, se ha demostrado la toxicidad intrínseca del tinte (Korb et al., 2008). El Rosa de Bengala tiñe las células de la superficie del epitelio que están desprotegidas por mucina o glicocáliz, además de células muertas o degeneradas (Argueso et al., 2006).

La tinción con verde de lisamina fue propuesta como método de tinción de la superficie ocular por Norn en 1973. Su uso es comparable al del rosa de bengala, pero al no teñir células sanas se convierte en ideal para la detección de células muertas o degeneradas, con la ventaja de no inducir toxicidad (Tseng, 1994) y de una mejor tolerancia (Manning, Wehrly y Foulks, 1995). Tiñe células epiteliales sólo si la membrana está dañada, independientemente de la presencia de mucina, mientras que el rosa de bengala, debido a su toxicidad, produce teñidos a la célula independientemente de su estado, una vez que la mucina esté ausente (Argueso et al., 2006).

Se han propuesto diferentes métodos en lo relativo al volumen de tinte óptimo a instilar y la forma de hacerlo, entre los que se recomienda el uso de tiras de papel impregnado y humedecido (Wolffsohn et al., 2017), frente a otros que utilizan micropipetas (Toda y Tsubota, 1993). Para la



## INTRODUCCIÓN

observación de las tinciones se utiliza la lámpara de hendidura y la ayuda de diferente tipo de filtros para incrementar su visibilidad. En el caso de la fluoresceína, se requiere una iluminación con un filtro azul cobalto, de una longitud de onda aproximada de 450 nm, junto a un filtro de observación amarillo de unos 500 nm (Peterson, Wolffsohn y Fowler, 2006). Para el verde de lisamina un filtro rojo de entre 567 y 634 nm (Hamrab et al., 2011).

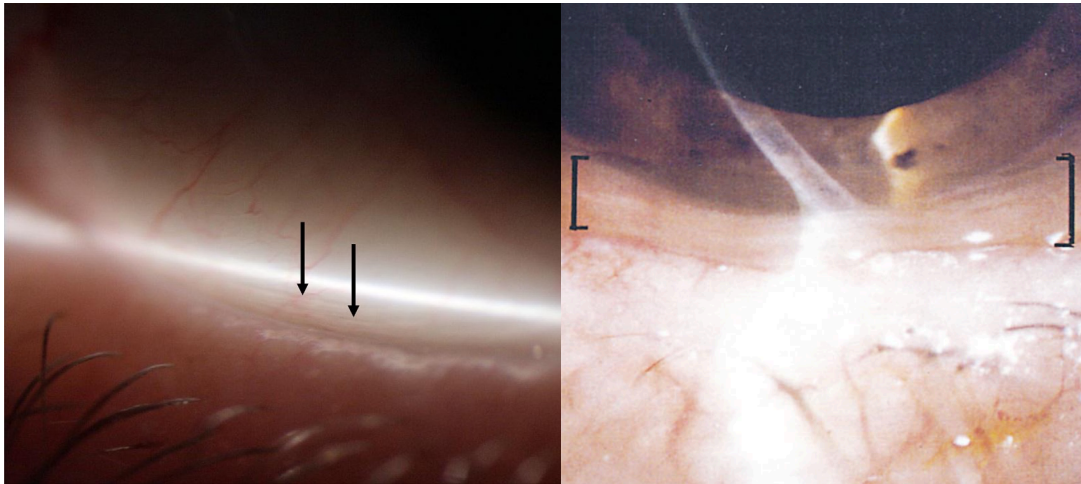
La citología de impresión conjuntival o CIC es otra de las técnicas para valorar el estado de la superficie ocular. Propuesta en 1977 (Egbert, Lauber y Maurice, 1977), es relativamente simple y práctica, y se realiza tomando una muestra de las capas más superficiales del epitelio de la superficie ocular, mediante la aplicación de un filtro de acetato de celulosa. Se han desarrollado diferentes técnicas para el consiguiente análisis citológico, inmunocitológico o molecular de las muestras (Zuazo et al., 2014), que han sido usadas para el diagnóstico de varios tipos de OSD, como la deficiencia de células madre, neoplasia, o determinadas infecciones virales (Tole, Mckelvie y Daniell, 2001). Aunque esta técnica se ha estandarizado en la pasada década fundamentalmente para el estudio de la metaplasia escamosa y la densidad de células de Goblet, cuyo número estaría disminuido en los casos con DED severa (Mrugacz et al., 2008). Entre los diferentes sistemas propuestos para gradar la metaplasia escamosa, el de Nelson (Nelson, Havener y Cameron, 1983) es el más extendido (Zuazo et al., 2014).

Otra de las pruebas para valorar la superficie ocular son los pliegues conjuntivales paralelos al párpado o LIPCOF (del inglés, *Lid-Parallel Conjunctival Folds*), que se producen en el cuadrante inferior de la conjuntiva bulbar, y parecen ser debidos a las fuerzas de fricción que ejerce el borde del párpado sobre ésta (Pult et al., 2015). Pero es importante comenzar distinguiendo entre dos formas clínicas diferentes, la conjuntivochalasis y los LIPCOF (Figura 1.14).

Aunque comparten etiología, pues, de hecho, los LIPCOF se consideran grados medios de la conjuntivochalasis (Pult et al., 2015), en el caso de ésta última el área del pliegue es mucho mayor (Gumus y Pflugfelder, 2013; Pult y Riede-Pult, 2015). Además, los LIPCOF no ocurren en la zona central inferior de la conjuntiva, y aparentemente no están relacionados con la edad (Hoh, Schirra, Kienecker y Ruprecht, 1995). A diferencia de la conjuntivochalasis, cuya severidad aumenta con la edad (Gumus y Pflugfelder, 2013), y que puede ser inducida a través de parpadeo forzado, mirada inferior, o de presión digital hacia arriba del párpado inferior sobre

## INTRODUCCIÓN

la conjuntiva bulbar en cualquier zona (Meller y Tseng, 1988), lo que hace que se interrumpa la correcta formación del menisco lagrimal sobre la córnea.



**Figura 1.14. Fotografías con ejemplos de pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF) (Pult et al., 2015) a la izquierda y conjuntivochalasis (Meller y Tseng, 1988) a la derecha.**

La severidad de LIPCOF está asociada a una producción disminuida de mucina, la presencia de epitelopatía en parabrasis (Berry, Pult, Purslow y Murphy, 2008), parpadeo incompleto (Pult, Riede-Pult y Murphy, 2013), y a una velocidad de parpadeo o viscosidad lagrimal anómala (Pult et al., 2015). Se ha demostrado también la relación entre un LIPCOF elevado y la presencia de DED (Hoh, Schirra, Kienecker y Ruprecht, 1995).

Tradicionalmente, las medidas se han realizado sobre el área inferior perpendicular al limbo con la ayuda de una lámpara de hendidura con 25X (sin la ayuda de fluoresceína) (Berry, Pult, Purslow y Murphy, 2008), aunque en estos casos a veces es difícil discernir entre pliegues permanentes (de una altura aproximada a 0.08 mm) y micro-pliegues (de aproximadamente 0.01 mm). En la actualidad se han desarrollado otros métodos de medida con fotografía de Scheimpflug (Hoh, Schirra, Kienecker y Ruprecht, 1995) y AS-OCT (Veres et al., 2011 y Tapasztó et al., 2011), lo que ha permitido, además de la validación del número y la altura de los pliegues con mayor precisión, el desarrollo de otros métodos de gradación en función del área de la sección de LIPCOF o los LIPCOF cubiertos por menisco lagrimal.

La microscopía confocal en vivo o IVCM (del inglés, *In Vivo Confocal Microscopy*) es una prueba no invasiva de alta resolución que proporciona imágenes en vivo a nivel celular, lo que permite la detección de cambios en el epitelio de la superficie ocular (córnea y conjuntiva),

## INTRODUCCIÓN

células inmunes e inflamatorias, nervios corneales, queratocitos y la estructura de la MG. La capacidad del LASER IVCM aplicado al estudio de la DED ha permitido analizar y cuantificar el daño que se produce en éstos, lo que lo convierte en una herramienta válida para la evaluación y monitorización de la DED.(Alhatem, Cavalcanti y Hamrah, 2012) En el caso de la superficie corneal se ha detectado un descenso en la densidad de células epiteliales en la periferia media de la córnea (Erdelyi et al., 2007); así como también se han encontrado cambios en los nervios corneales, con un descenso en la densidad de nervios sub-basales, y un incremento en su tortuosidad y número de puntos brillantes (Villani et al., 2013). En el caso de la superficie conjuntival también se produce el descenso en la densidad de células epiteliales (Villani et al., 2013), además del de células de Goblet preferentemente en la región tarsal (Villani et al., 2011); de otro lado, en la metaplasia escamosa conjuntival se produce un incremento en el área de las células epiteliales, y un descenso en el ratio nucleocitoplasmático, además de también en la densidad de células de Goblet (Kojima, Matsumoto, Dogru y Tsubota, 2010).

A pesar de las posibilidades que plantea (se ha demostrado que es una técnica válida incluso para el estudio de infecciones parasitarias como la del ácaro Demodex (Randon et al., 2015)), no es una técnica que se haya extendido en la práctica clínica, y sus posibilidades predictivas en el diagnóstico del DED están hasta la fecha poco claras (Wolffsohn et al., 2017).

El estado de los nervios corneales puede ser evaluado con un estesiómetro, analizando la sensibilidad de la superficie ocular, bien por contacto como el de Cochet-Bonnet, o bien sin contacto por aire a presión (Belmonte et al., 2017).

Según recientes estudios, para evaluar el DED, analizar la sensibilidad en la conjuntiva palpebral puede ser más crítico que en la córnea (Cox y Nichols, 2015). Aunque la estesiometría está pobremente correlacionada con otras pruebas de detección de la DED, mostrando una sensibilidad muy alta (96%), pero una especificidad muy baja (19%) (Versura, Profazio y Campos, 2010). También se aplica sobre el borde del párpado, ya que muestra una sensibilidad media entre las obtenidas en la córnea o la conjuntiva, pero tampoco está claro su capacidad diagnóstica en casos de DED (Wolffsohn et al., 2017).

### 1.3.3.7. Inflamación de la superficie ocular

La última revisión de artículos relacionados realizada por Wei y Asbell en 2014, concluye que la inflamación de la superficie ocular juega un papel principal en el mecanismo fisiopatológico de

## INTRODUCCIÓN

la DED (Craig et al., 2017 A), tal como se ha evidenciado en los numerosos estudios existentes, cuyas hipótesis se resumen a continuación de forma breve.

A nivel celular y molecular, las células epiteliales de la superficie ocular son la primera barrera del sistema autoinmune, protegiendo al organismo contra la invasión de patógenos y de irritaciones dañinas. Como consecuencia de la ruptura de esa barrera, la inflamación es producida por el incremento de la infiltración en las células inmunes de mediadores líquidos como las citoquinas. Como respuesta, los granulocitos liberan enzimas y mediadores anti-inflamatorios que desarrollan y mantienen la respuesta, mientras que los leucocitos, que normalmente residen en la sangre, se desplazan por extravasación hasta el tejido inflamado. La respuesta aguda inflamatoria está generalmente mediada por los granulocitos, mientras la respuesta crónica es mediada por macrófagos y células mononucleares y dendríticas.(Wei y Asbell, 2014)

En el caso concreto de la DED, la cronicidad de la enfermedad sugiere que se produce un fallo en el mecanismo autoinmune, que conduce a un ciclo de continua inflamación acompañado de alteraciones en ambas respuestas. Cuando la inflamación es aguda el cuadro clásico es de dolor, quemazón, enrojecimiento, hinchazón, y pérdida de la función.(Wolffsohn et al., 2017)

Aunque no son aplicados en la práctica clínica habitual, sino más bien en estudios de diagnóstico y seguimiento de la enfermedad (Wolffsohn et al., 2017), los componentes inflamatorios de la DED presentan determinados cambios a nivel celular y molecular en el tejido corneal y conjuntival, que pueden ser medidos a través de biomarcadores, y que pueden ser utilizados para clasificar la severidad de la enfermedad de una forma estable (Wei y Asbell, 2014).

Entre los inmuno-marcadores de la superficie ocular más ampliamente utilizados se encuentra la expresión de HLA-DR, que es un antígeno MHC de Clase-II que indica una pérdida del normal entorno de inmuno-supresión. Según Epstein et al. en 2013, se ha demostrado que un incremento en la expresión de células HLA-DR está asociado a un incremento en la severidad de la DED, aunque en los estudios consultados se produce una gran variabilidad, lo que puede demostrar que no todos los casos de DED son igualmente inflamatorios.

A nivel molecular, se ha descubierto que la variación de la concentración en lágrima de determinado tipo de proteínas como el aumento de citocinas y quimiocinas reflejan el nivel de enfermedad epitelial (Wolffsohn et al., 2017). Las subclases de citocinas que parecen relacionados con las formas de ADDE y ojo seco por deficiencia de lípidos son las T-células TH1, TH2 y TH17, aunque TH1 se encuentra en todas sus formas, y en mayor concentración en pacientes con ADDE (Meadows, Dionne y Nichols, 2016). Debido a que la muestra necesaria es

## INTRODUCCIÓN

de fluido lagrimal, esta prueba ha sido recomendada (Willcox et al., 2017) como herramienta de diagnóstico de la DED.

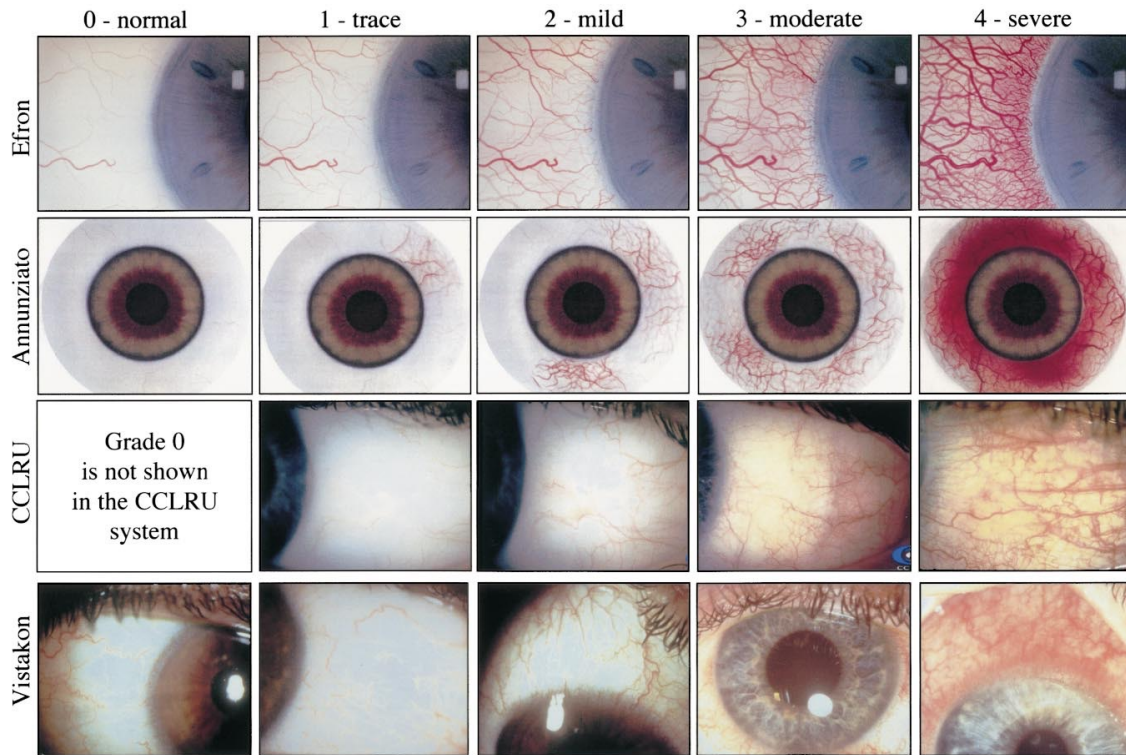
La matriz de metaloproteinasas (MMPs) son una de las muchas clases de proteasas segregadas en la lágrima en los casos de DED (Willcox et al., 2017). Pueden destruir las uniones de las células epiteliales de las superficie ocular, por lo que reflejan su estado. Además de pruebas en laboratorio, existe en el mercado el dispositivo InflammDry (*Rapid Pathogen Screening, Inc, Sarasota, FL, USA*) que permite en 10 minutos calcular los niveles de MMP-9 a partir de una muestra de lágrima tomada del saco conjuntival inferior. Además, este test también puede indicar la necesidad de tratamiento con fármacos anti-inflamatorios (esteroides y ciclosporina), así como también podría predecir aquellos pacientes con mejor respuesta a estas terapias. (Kaufman, 2013)

La IVCM ha permitido también la realización de diferentes estudios que han descubierto cambios morfológicos en la zona sub-epitelial y estromal de la córnea en caso de inflamación de la superficie ocular (Wolffsohn et al., 2017). Pero más recientemente, otros estudios se han extendido a otros componentes de la unidad morfofuncional de la superficie ocular, como la película lagrimal, la conjuntiva tarsal y el borde palpebral (incluidas las pestañas y las glándulas de Meibomio) (Messmer et al., 2005). De forma específica para pacientes acuodeficientes, se han descubierto cambios en el grosor corneal, en la morfología de las células corneales y la presencia de células estromales hiper-reflectivas (Villani et al., 2007). También se han documentado cambios patológicos que pueden ser visualizados objetivamente en caso de pacientes con MGD, pudiéndose incluso detectar la etiología inflamatoria (meibomitis) si se constata la presencia de infiltrados en la pared del acino glandular, lo que permite definir también a la IVCM como una técnica objetiva en la clasificación y seguimiento de pacientes con blefaritis (Messmer et al., 2005).

De forma tradicional con la ayuda de la lámpara de hendidura, otra prueba diferente de medir el grado de inflamación ha sido a través del enrojecimiento conjuntival, que es el signo clínico más común, derivado de la dilatación de los vasos sanguíneos conjuntivales (Papas, 2000).

Se han propuesto diferentes escalas de gradación para medir el enrojecimiento de una forma subjetiva (Efron, Morgan y Katsara, 2001). Muchos de estos trabajos derivan de la necesidad de medir la inflamación producida por el uso de lentes de contacto, y se realizan comparando el grado de severidad tanto con imágenes ilustradas como con montajes fotográficos (Figura 1.15).

## INTRODUCCIÓN



**Figura 1.15. Imagen que compara cuatro sistemas de gradación de enrojecimiento conjuntival: Efron, Annunziato, CCLRU y Vistakon. (Efron, Morgan y Katsara, 2001)**

Citando algunas de estas escalas en orden cronológico, encontramos “Enrojecimiento conjuntival” (McMonnies y Chapman-Davies, 1987), “Vistakon” (Andersen et al., 1996), “CCLRU” (CCLRU, 1997), y “Annunziato” (Annunziato et al., 1992), aunque la más utilizada de forma clínica (Amparo et al., 2013) es la escala “Efron” (Efron, 1998). Como puede comprobarse en la Figura 1.15, no existe una correspondencia entre las escalas, aunque coincidan en establecer 4 niveles de severidad, por lo que no deben considerarse equivalentes (Efron, Morgan y Katsara, 2001).

A partir de fotografías del paciente se han validado sistemas de análisis digital de la imagen (Wolffsohn y Purslow, 2003; Peterson y Wolffsohn, 2007), que han mejorado cuantitativamente y han aumentado la objetividad, la sensibilidad y la fiabilidad del método (Peterson y Wolffsohn, 2009), pudiéndose realizar incluso de forma directa, simple, objetiva y automatizada con aplicaciones disponibles en instrumentos como el Keratograph 5M (Oculus, Wetzlar, Germany and JenVis Research (Jena, Germany)) (Amparo et al., 2013).

### 1.3.3.8. Alteraciones de los párpados

Desde un punto de vista anatómico, habría que comenzar diferenciando entre la zona anterior y la posterior del párpado. La zona anterior no está relacionada directamente con el DED primario, aunque sí que es necesario descartar la comorbilidad de otras patologías que puedan influir en su correcto diagnóstico (Wolffsohn et al., 2017).

En la zona posterior del párpado se pueden producir algunas alteraciones relacionadas con el DED, entre las que podemos señalar la epitelopatía en limpiaparabrisas. En 2002 Korb et al. definieron a ese “limpiaparabrisas” palpebral como la zona marginal del epitelio de la conjuntiva superior e inferior del borde interno del párpado en contacto con la superficie ocular, o con la superficie de la lente de contacto en caso de ser portadores. Según estos autores, la inadecuada fricción entre estas superficies puede conducir a que puedan observarse tinciones en la zona superior, comúnmente denominada epitelopatía en parabrisas, aunque otras teorías (Pult et al., 2015) relacionan el daño a las fuerzas hidrodinámica inducidas por la viscosidad de la lágrima al comienzo el parpadeo.

La interferometría es una forma indirecta de evaluar el estado de las MGs a través del análisis de la TFLL de la película lagrimal. Como cualquier aceite tiende a distribuirse sobre el agua formando una fina capa en su superficie, los lípidos segregados por las glándulas de Meibomio usualmente se distribuyen de una forma dinámica tras el parpadeo, desde la zona inferior hacia la superior, tendiendo rápidamente a estabilizarse. Cualquier alteración en el grosor de la TFLL puede incrementar la evaporación de la lágrima y alterar la regularidad de su superficie. Con la ayuda de la luz adecuada puede conseguirse un patrón de interferencias, producido por las reflexiones que se producen tanto en la cara interna como la externa de la TFLL, de forma que analizando la dinámica y el patrón de reflexión de la superficie puede estimarse su grosor. (Yokoi et al., 2008)

Esto ha propiciado la aparición de instrumentos clínicos específicos como el *Tearscope* (Keeler, Windsor, UK), que utiliza una iluminación de banda ancha para visualizar la cinética de la TFLL y muestra que los diferentes patrones de franjas interferométricas se generan de acuerdo al grosor de la TFLL (Guillon, Styles, Guillon y Maissa, 1997); o el TearScience LipiView II (TearScience, Morrisville, NC), que permite de forma automática medir el grosor de la TFLL, por lo que puede ser apropiado para la detección de MGD (Finis, Pischel, Schrader y Geerling, 2013), ya que se ha encontrado una alta probabilidad de MGD obstructiva en pacientes con bajos grosores de TFLL. Aunque también podemos encontrar recientes sistemas introducidos para

## INTRODUCCIÓN

investigación, como el interferómetro de corte lateral, que a través de un LASER de Helio-Neón y el análisis a través de transformadas de Fourier logra detectar irregularidades en la superficie ocular, relacionadas con rupturas de la capa lipídica (Szczesna y Iskander, 2009). Este método parece ser mas robusto que los anteriores a cambios en las franjas de interferencia causadas por el movimiento natural de los ojos, o en determinados casos donde se produce un elevado ruido en sus mediciones.

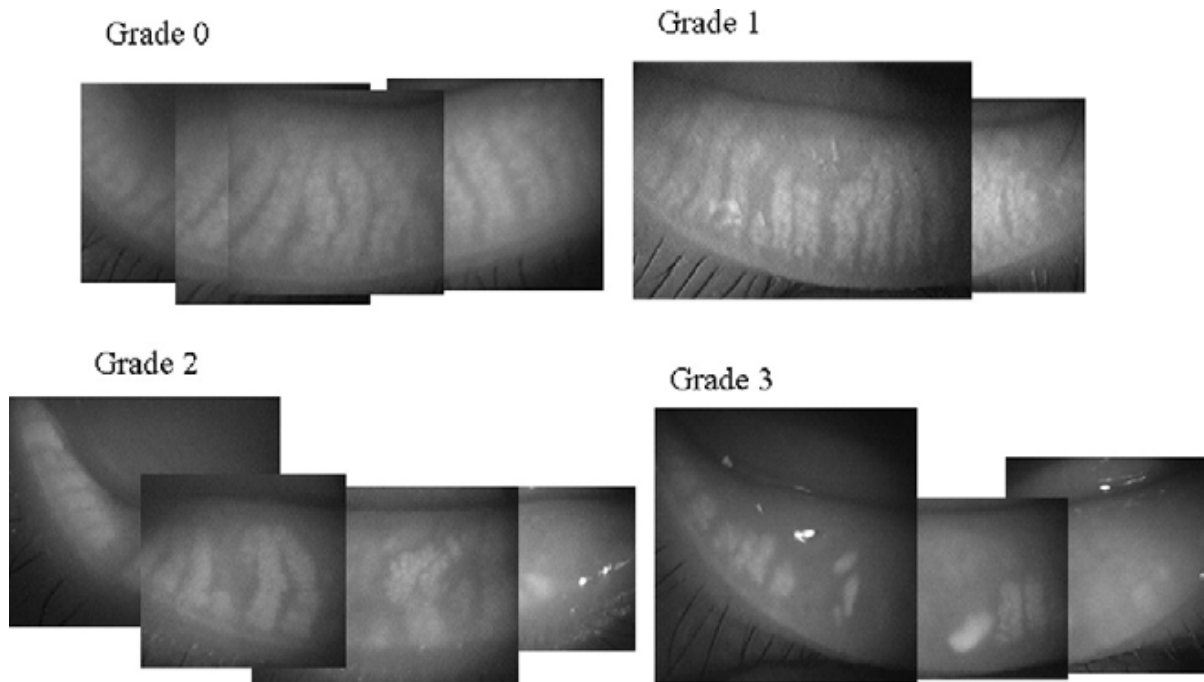
La meibografía es la técnica que permite la observación de la silueta de la estructura morfológica de las MGs (Wolffsohn et al., 2017), aunque inicialmente, la técnica empleada para su observación fue la meiboscopia, que fue descrita por Tapie en 1977, y se basa en la trans-iluminación de las MGs usando una sonda de iluminación utilizada normalmente para intervenciones vítreas intraoculares, cuya punta es insertada tras el párpado evertido, lo que permite observar con un microscopio la silueta de estas glándulas desde la otra parte. Como desarrollo de la meiboscopia, la meibografía incorpora necesariamente la grabación de imágenes. La captura de fotografías fue introducida en 1982 por Jester et al. en un experimento realizado con conejos, y en 1985, Robin et al. utilizaron en humanos esta técnica de trans-iluminación del párpado con biomicroscopia y película fotográfica infrarroja. En 1991 Mathers et al. dieron su nombre a la técnica, y utilizando dispositivos de trans-iluminación con cable de fibra óptica comprobaron que un 74% de los pacientes con blefaritis crónica tenían evidencia de pérdida glandular, mientras sólo el 20% de los pacientes sanos mostraban algún tipo de pérdida. Más tarde, en 1994 Mathers, Daley y Verdick desarrollaron el primer sistema de video-meibografía, usando una videocámara infrarroja que permitía la visión simultánea y grabación de imágenes para su posterior estudio, que incluía el diseño de un trans-iluminador en forma de T para facilitar la eversión del párpado. El desarrollo tecnológico ha propiciado el uso de dispositivos de vídeo-cámaras CCD (o dispositivo de carga acoplada, del inglés, *Charge-coupled Device*) para la observación de las glándulas a través de la trans-iluminación mediante una luz infrarroja incorporada a una sonda especialmente desarrollada para no inducir molestias al paciente (Yokoi et al., 2007).

Aunque la práctica de la trans-iluminación en sus diferentes modalidades han sido esenciales en el estudio de la MGD, éstas se vieron reemplazado por los sistemas de captura directa de imágenes digitales, que de forma instantánea son capaces de reproducir imágenes de gran calidad (Ngo, Srinivasan y Jones, 2012). En 2008 Arita, Itoh, Inque y Amano desarrollaron un sistema de Meibografía infrarroja sin contacto, en el que la sonda para trans-iluminar la luz bajo



## INTRODUCCIÓN

el párpado no es necesaria, usando una lámpara de hendidura equipada con un filtro de luz infrarroja (IR-83, *Hoya, Tokyo, Japan*) y un equipo de video-cámara CCD infrarrojo (Figura 1.16).



**Figura 1.16. Meibografía sin contacto propuesta por Arita, Itoh, Inque y Amano, en 2008, donde puede apreciarse el desarrollo de la pérdida de las glándulas de Meibomio: grado 0, sin pérdida; grado 1, área perdida menor que un tercio del área total; grado 2, área perdida entre un tercio y dos tercios del área total; y grado 3, área perdida mayor a dos tercios del área total.**

En 2012 Pult y Riede-Pult sustituyeron el sistema de iluminación anterior utilizando una cámara infrarroja de seguridad modificada. El dispositivo propuesto, que no necesita ser montado sobre una lámpara de hendidura, consta de una fuente de luz infrarroja y una cámara CCD infrarroja incorporada, sobre la cual y para facilitar su enfoque en visión próxima se antepuso un lente de +20.00 dioptrías. Al dirigir el dispositivo hacia el párpado evertido se permite la captura de la luz infrarroja reflejada. Las imágenes digitales obtenidas son trasladadas a un ordenador, y analizadas a través del *software* ImageJ (*Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA*) puede diferenciarse el área glandular perdida en relación al área total calculada, expresándose en porcentaje a través del factor MGL (del inglés, *Meibomian Gland Loss*). (Pult y Riede-Pult, 2012)

## INTRODUCCIÓN

Entre los últimos instrumentos comerciales disponibles para la meibografía, que entre otras de sus funciones permiten la visualización de imágenes infrarrojas digitales para su posterior análisis, podemos encontrar el Keratograph 5M (*Oculus, Wetzlar, Germany and JenVis Research (Jena, Germany)*) (Srinivasan, Menzies, Sorbara y Jones, 2012), el Lipiview II (*TearScience, Morrisville, NC*), el Sirius Scheimpflug Camera (*C.S.O, Construzione Strumenti Oftalmici, Florence, Italy; bon Optic VertriebsgmbH, Lübeck, Germany*), el Myah (*Topcon, TKY, Japan*) y el Cobra Retinal Camera (*bon Optic, Lübeck, Germany*). Los tres últimos incluyen además un software asociado al instrumento que permite la gradación de forma automática, lo que les hace más accesibles en la rutina clínica diaria. (Pult y Nichols, 2012)

El término expresividad describe la facilidad con la que la secreción de la glándula de Meibomio puede ser físicamente expelida. Para ello, la técnica requiere el uso de presión sobre el párpado para comprimir las glándulas, insertadas en su placa tarsal. Para realizar su diagnóstico clínico, se requiere la observación simultánea del borde palpebral bajo la magnificación de un biomicroscopio. De forma cualitativa también se observan y documentan diferentes parámetros de la secreción, como la presencia o ausencia de secreción, el color y su consistencia. (Blackie y Korb, 2010)

Algunos autores (Korb y Blackie, 2008) miden la expresividad en función del número de glándulas sobre 8 de cada tercio del párpado inferior (se analizan 24 en total) que pueden expresar, puntuación denominada MGYLS (del inglés, *Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion*). Se ha demostrado (Korb y Blackie, 2008) que el número de glándulas con expresión líquida al aplicar esta presión controlada sobre el párpado inferior, está relacionada con síntomas de DED ( $p = 0.0002$ ).

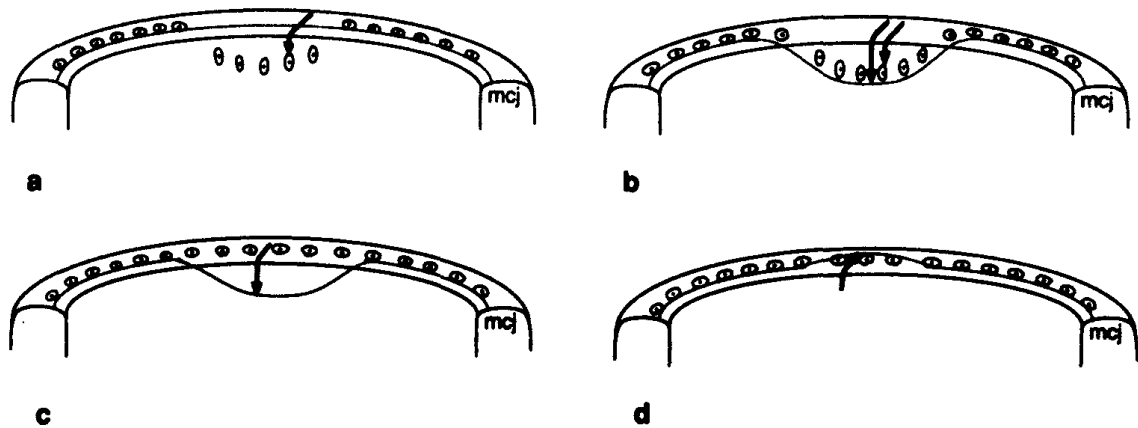
Estudios como el realizado por Mathers (Mathers et al., 1991) han demostrado que se puede usar un análisis objetivo de la función de las MGs para evaluar la blefaritis crónica, y definir subtipos de blefaritis por las diferencias entre sus medidas, entre las que el volumen y la viscosidad de la expresión meibomiana son necesarios.

La observación del borde del párpado es primordial, ya que este es una estructura esencial para el mantenimiento de la película lagrimal preocular y de suma importancia para la preservación de la integridad de la superficie del ojo y el desarrollo del DED (Knop, Korb Blackie y Knop, 2010). Foulks y Bron en 2003 definieron varios de los signos más comunes de la MGD que pueden identificarse: La hiperqueratinización del borde de los párpados puede observarse como

## INTRODUCCIÓN

un incremento en la reflectancia del borde marginal de la piel del párpado, donde puede también asociarse blefaritis anterior, con engrosamiento del borde palpebral, así como madarosis, triquiasis y distiquiasis. La pérdida del grosor de la mucosa marginal conduce a muescas y finalmente al redondeo del margen posterior del párpado, lo que puede afectar al apoyo sobre el globo ocular. En la blefaritis suele observarse como el párpado inferior se separa del globo ocular cuando el paciente dirige la mirada hacia arriba.(Foulks y Bron, 2003)

La observación de la UMC puede desaparecer, o puede encontrarse situada adelantada, por lo que los orificios pueden emerger sobre la mucosa marginal (Figura 1.17 d), o de forma retrasada, la más común, y que está asociada a la pérdida de la mucosa marginal (Figura 1.17 c y 1.17 b). Pueden observarse también resaltes en el UMC o franjas de tejido entre los orificios.(Foulks y Bron, 2003)



**Figura 1.17. Dibujos que ilustran las distintas alteraciones de los orificios meibomianos y la unión muco-cutánea: a) Retroemplazamiento de los orificios, b) Retroemplazamiento de los orificios y la unión muco-cutánea, c) Retroemplazamiento de la unión muco-cutánea, y d) Anteroemplazamiento de la unión muco-cutánea (Bron, Benjamin y Snibson, 1991).**

Los orificios pueden presentar ocasionalmente tapones visibles, formados por una cúpula aceitosa con una fina corteza en su superficie. También pueden presentar unas especies de tapaderas, que son elevaciones que recubren el orificio, probablemente debidas a tapones de excreción acumulada, la cual puede ser liberada con presión sobre la glándula. Entre otras formas asociadas con una pérdida de expresibilidad se incluyen: estrechez, pérdida de definición, opacidad, cicatrices periductales e invasión vascular.(Foulks y Bron, 2003)

En los procesos cicatriciales, como ya se vio en la Figura 1.12, una de las manifestaciones más tempranas es que los orificios meibomianos se elongan de forma oval, lo que permite observar la

## INTRODUCCIÓN

exposición del conducto en su proceso de retroemplazamiento hacia el interior de la mucosa tarsal (Bron, Benjamin y Snibson, 1991). El avance de esta dilatación cistoide que se produce en el conducto principal puede observarse en la superficie tarsal como la forma de un cigarro, al que a menudo se asocia un “signo de fibra óptica” positivo, o efecto que se produce cuando iluminamos con un estrecho haz de luz la mucosa de esa zona, y que consiste en observar si sale luz del orificio. Los acinos glandulares pueden observarse dilatados, perdiendo visibilidad, así como la presencia de concreciones y chalazia.(Foulks y Bron, 2003)

La IVCN puede ser también usada para el estudio del margen del párpado, siendo útil en el análisis y evolución de ciertos aspectos morfológicos de las MGs, córnea, o la presencia de Demodex en la raíz de las pestañas (Wolffsohn et al., 2017).

Finalmente, en el estudio de la dinámica del párpado, para un correcto análisis del parpadeo es necesario analizar si se produce un correcto cierre del párpado, así como la frecuencia del parpadeo. Un cierre incompleto puede observarse por tinciones en “línea de marea” características, que señalan el límite inferior del movimiento del borde del párpado superior. Por otro lado, el intervalo entre parpadeos es variable entre sujetos (por poner un ejemplo, en el informe TFOS DEWS II lo sitúan entre 10 y 15 por minuto), por lo que no hay valores diagnósticos apropiados, pero se ha demostrado menor en DED. En la actualidad existen diferentes sistemas de grabación digital de vídeo de alta velocidad que pueden realizar esta tarea de forma automatizada.(Wolffsohn et al., 2017)

## **1.4. La tomografía de coherencia óptica en el diagnóstico del ojo seco**

### **1.4.1. Repaso histórico de la tecnología**

La OCT es una técnica de imagen óptica de alta resolución de secciones de sistemas biológicos, que se realiza sin contacto de una forma rápida (Wylegala et al., 2009). Se basa en un principio similar al del RADAR o la imagen por ultrasonido: midiendo el retraso que se produce en la correspondiente onda (radio o ultrasónica) puede calcularse la profundidad de la estructura objetivo, para posteriormente reconstruir imágenes a partir de series de escaneos axiales. Pero, a diferencia de éstos, en la OCT se utiliza un haz de luz infrarrojo, por lo que es imposible medir el retraso directamente, ya que la velocidad de la luz es extremadamente alta y se pretenden medir distancias de unas cuantas micras. La tecnología OCT calcula este retraso de forma indirecta, a través de la interferometría de Michelson.(Huang, 2013) Y la imagen que proporciona (B-Scan) se construye por tanto a partir de una serie de escaneos axiales adyacentes de profundidad (A-Scans) (Rollins et al., 1998). La resolución axial de la OCT está determinada por la longitud coherente del haz de luz, a lo que debe su nombre (Huang, 2013). Inventada en 1991 en el laboratorio del Profesor James G. Fujimoto del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) por Huang et al., inició su comercialización en 1995, incrementándose desde entonces su uso para diagnosticar y monitorizar muchas de las patologías de la retina y de la cámara anterior (Wylegala et al., 2009).

En su adaptación al segmento anterior, para la AS-OCT se han desarrollado diferentes técnicas y aplicaciones desde entonces. Lim en 2015 realiza un repaso bibliográfico, en el que además de la medida del menisco (objeto de este trabajo), pueden encontrarse otras utilidades clínicas, como el estudio de alteraciones en la superficie ocular como el pterigium, la pinguécula y la escleromalacia, el análisis arquitectónico posterior a la cirugía de cataratas, la queratectasia post-LASIK, el desprendimiento de la membrana de Descemet, la evaluación del injerto posterior a la queratoplastia, la presencia de depósitos corneales como los producidos en las distrofias corneales y la córnea *Verticillata*, la queratitis, tumores del segmento anterior, y evaluación del glaucoma a través de la medida del ángulo irido-corneal, el análisis morfológico de las fenestraciones en la trabeculectomía, o la cirugía de implantación de drenajes.

## INTRODUCCIÓN

Podemos encontrar varios desarrollos de esta tecnología en su aplicación al segmento anterior, que comenzó con la OCT de dominio temporal o TD-OCT (del inglés, *Time-domain Optical Coherence Tomography*) (Fukuda et al., 2013). Izatt et al. en 1994, en el mismo laboratorio del MIT, fueron los primeros en visualizar el segmento anterior usando tecnología OCT con longitud de onda de 830 nm. Desde entonces y durante algunos años, los estudios utilizaron escáneres TD-OCT retinales, ya que eran los únicos comercialmente disponibles. Entre éstos encontramos las series OCT1, 2 y 3 (*Humphrey Instruments Inc., CA*), que más tarde se convirtió en parte de *Carl Zeiss Meditech, Dublin, CA*. Esto obligó a que los investigadores adaptaran estos instrumentos al polo anterior, pero las imágenes capturadas presentaban numerosos problemas potenciales. (Huang, 2013) Los ajustes de la longitud del escáner del OCT-1 por ejemplo, no estaban adaptados al polo anterior, y a un campo de visión estrecho se le añadía la baja velocidad de escaneo (100 *A-Scans* por segundo), lo cual requiere 1 segundo para poder crear una imagen bidimensional, además de que cualquier leve movimiento de cabeza puede reducir la precisión de las medidas y producir artefactos (Zhou et al., 2009). A pesar de ello, instrumentos comerciales como el Stratus OCT (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), también denominado OCT-3, con una resolución de 8-10  $\mu\text{m}$  han demostrado un alto potencial en el examen y valoración del menisco lagrimal.

En 1998 Rollins et al. describieron el primer dispositivo OCT con sistema de vídeo en tiempo real, basado en una fuente de banda ancha de alta potencia y un sistema de adquisición de imágenes que, aplicando las transformadas de Fourier, calcula el retraso del pulso para medir la profundidad y describir su forma. Basados en ésta tecnología, algunos prototipos de OCT propuestos en 2001 por Radhakrishnan y desarrollados por Huang, Li, y Radhakrishnan en 2004 y por Wang, Aquavella, Palakuru y Chung en 2006, llegaban a realizar 4000 *A-Scans* por segundo utilizando una longitud de onda de 1310 nm, con una resolución longitudinal de 8  $\mu\text{m}$  y trasversal de 15  $\mu\text{m}$  sobre un campo de visión lateral de 5 mm, incluyendo una geometría telecéntrica y software adaptado al segmento anterior, lo que mejoraba la precisión de las anteriores TD-OCT. Esta tecnología estaba especialmente diseñada para el estudio de la lágrima sobre la superficie ocular, y permitía realizar escaneos a tiempo real (hasta 8 fotogramas por segundo) de 15 mm de longitud conectado a un objetivo telecéntrico desarrollado al efecto, con una resolución en córnea menor de 10 micras.

## INTRODUCCIÓN

A partir de la longitud de onda de 1310 nm se desarrollaron instrumentos que, de forma similar a los prototipos anteriores, estaban montados sobre una lámpara de hendidura, como la SL-OCT (*Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany*), aunque con una velocidad menor de escaneo ya que realiza una toma por segundo (Huang, Li, y Radhakrishnan, 2004). También dio lugar a otros instrumentos específicos para el polo anterior TD-OCT como la Visante OCT (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*) (Huang, 2013), que utiliza un diodo superluminiscente como fuente de iluminación, y en su modo de escaneo en alta resolución tiene una resolución longitudinal de 18  $\mu\text{m}$  y trasversal de 60  $\mu\text{m}$ . Puede realizar hasta 2048 A-Scans por segundo, que le permiten una precisa evaluación morfométrica de las estructuras oculares, con buena repetibilidad y reproducibilidad en sus mediciones. (Ibrahim et al., 2010; Fukuda et al., 2013)

Introducida comercialmente en 2002, la OCT de dominio de Fourier, también llamada de dominio espectral o FD-OCT (del inglés, *Fourier-domain Optical Coherence Tomography*), proporciona una resolución trasversal de 5  $\mu\text{m}$  y trasversal de 15  $\mu\text{m}$  en el instrumento RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) con módulo adaptador de baja magnificación corneal (CAM-L). Con una longitud de onda de 830 nm, llega a realizar 26000 A-Scans por segundo, lo que proporciona imágenes en tiempo real más precisas (Wylegala et al., 2009) y reproducibles (Zhou et al., 2009) que las obtenidas con las anteriores TD-OCT. El Cirrus HD-OCT (*Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA*) es otro FD-OCT que también dispone de un protocolo de examen para polo anterior. Su fuente de luz es un diodo de emisión de luz superluminiscente (SLD) de 840 nm, y el retorno de luz desde las rutas de muestra y de referencia se combinan en el detector, que es un espectrómetro que soluciona las señales de interferencia en la profundidad de cada A-Scan mediante una transformada de Fourier. Esto es posible porque el espectrómetro analiza las amplitudes relativas y las fases de los componentes espectrales dispersos de todas las profundidades de cada muestra de tejido del A-Scan, sin variar la longitud de la ruta de referencia. Al eliminarse además la necesidad de mover un brazo de referencia mecánico, es posible adquirir datos de imágenes de OCT unas 70 veces más rápido que con la tecnología TD-OCT, brindando también una resolución superior (hasta 5  $\mu\text{m}$ ) en comparación con ésta. Entre otros instrumentos comerciales con aplicación para segmento anterior que utilizan la tecnología FD-OCT podemos encontrar el Spectralis OCT (*Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany*), con una resolución de 7  $\mu\text{m}$  y una velocidad de adquisición de imagen de 12.8 ms (Arriola-Villalobos et al., 2015), o el SOCT Copernicus HR (*Optopol, Poland*) (Bartuzel, Szczesna-Iskander y Iskander, 2014).

Como último desarrollo comercial, la *Swept Source Optical Coherence Tomography* (SS-OCT) utiliza una longitud de onda de 1310 nm en dispositivos como el SS-100 (*Tomey Corp., Nagoya, Japan*), lo que permite una mayor penetración en el tejido, y gracias a una mayor velocidad de adquisición de datos, permiten además reconstrucciones tridimensionales de las estructuras. Esto redundaría en una alta repetibilidad y reproducibilidad de las medidas biométricas oculares del segmento anterior. (Fukuda et al., 2013) En su aplicación al menisco lagrimal, el SS-100 puede realizar 16 secciones en un ángulo de 90° separadas 1 mm entre ellas en 0.3 segundos, formando imágenes en las que puede observarse tanto el menisco superior como el inferior, compuestas de 512 *A-Scans* con una resolución axial de aproximadamente 8  $\mu\text{m}$  y transversal de 30  $\mu\text{m}$  (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015).

Aunque no ha tenido desarrollo hasta el momento, Yadav et al. en su estudio publicado en 2011 presentaron un prototipo de OCT espectral corneal de alta resolución. Utilizando 375 nm de amplitud de banda (625 a 1000 nm) proveniente de una fuente de iluminación supercontinua de banda ancha y un espectrómetro basado en el diseño propuesto por Czerny Turner, con una profundidad en la imagen de 1 mm midieron experimentalmente una resolución axial de 1.11  $\mu\text{m}$ .

### **1.4.2. Parámetros estudiados del menisco lagrimal**

La evaluación del menisco lagrimal con OCT es una tecnología ampliamente estudiada en los últimos años (Wolffsohn et al., 2017), y como vimos en el capítulo 1.3.3.4. los parámetros geométricos más comúnmente estudiados, han sido TMH, TMA, y TMR (Lim, 2015). En menor medida, también han sido estudiados la profundidad del menisco, en adelante TMD (del inglés, *Tear Meniscus Deep*), el volumen o TMV (del inglés, *Tear Meniscus Volume*), y muy raramente el ángulo de contacto del menisco con la córnea (denominado  $\alpha$ ).

Es posible consultar bibliografía sobre otros aspectos analizados del menisco lagrimal. Por poner algunos ejemplos, en el estudio de Qiu, Gong, Sun, y Jin en 2011 se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el de ojo seco, tanto en la línea exterior del menisco lagrimal, como en la transparencia lagrimal. Y también otros trabajos que estudian el ratio de aclaramiento lagrimal (Garaszczuk et al., 2018), pero la meniscometría es con diferencia la técnica más desarrollada con AS-OCT en la investigación del DED.



En el Anexo V podemos observar un resumen de los datos medios obtenidos en la bibliografía consultada sobre los parámetros del menisco lagrimal inferior en sujetos sanos con dispositivos AS-OCT. Por otro lado, el Anexo VI resume los datos medios obtenidos en la bibliografía consultada sobre los parámetros geométricos del menisco lagrimal inferior en muestras de pacientes DED.

Partiendo que la utilidad de dispositivos AS-OCT para medir las dimensiones del menisco está incluso aprobada por la FDA (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014) para la clasificación diagnóstica y grado de severidad de la condición de la disfunción lagrimal, en el Anexo VII se citan algunos ejemplos de estudios que analizan la validez en la detección del DED.

### **1.5. Justificación**

La valoración de los parámetros geométricos del menisco lagrimal resulta interesante para su aplicación en el diagnóstico diferencial de ojo seco, siendo factible su medida con tomografía de coherencia óptica. Pero las medidas del menisco obtenidas con AS-OCT van a ser variables por varios factores.

En primer lugar, la precisión de las imágenes tomográficas variará en función del instrumento utilizado y su resolución, así como también por las características técnicas del propio dispositivo, como se vio con anterioridad. Por ejemplo, en dispositivos más antiguos el tiempo de captura de la tomografía es mayor, o no disponen de herramienta de medida o ésta es muy limitada para determinados parámetros geométricos, por lo que se necesita exportar los datos a una aplicación externa, como en el trabajo de Chen et al. en 2010.

Por otro lado, determinados factores relacionados con los criterios de medición empleados sobre las imágenes tomográficas, así como los diferentes protocolos necesarios en la práctica clínica para la toma de muestras, pueden influir en las medidas obtenidas. Según Czajkowski et al. en 2012, las dimensiones del menisco son obviamente altamente variables, y dependen de numerosos factores, resultados que también variarán dependiendo de la metodología empleada. Con el tiempo se han desarrollado trabajos que proponen diferentes diseños en la toma de

## INTRODUCCIÓN

medidas, delimitación de los parámetros geométricos y su cálculo, y con el desarrollo de la tecnología AS-OCT han ido apareciendo aplicaciones en los instrumentos que simplifican el proceso automatizándolo, pero lo cierto es que en la actualidad son muy variados los criterios empleados.

A la vista de lo anteriormente expuesto, se hace necesario plantear un método que pueda ser fácilmente implementado en cualquier dispositivo (con o sin software de medición interno), que ante la falta de un método estandarizado hasta el momento permita simplificar el trazado y cálculo de los diferentes parámetros medidos habitualmente, y a su vez pueda proporcionar otros datos sobre la geometría del menisco no estudiados hasta el momento.

El método propuesto en este trabajo parte en un principio del cálculo del área de la sección transversal del menisco lagrimal, por lo que se ha denominado LIMA (del inglés, *Lacrimal Inferior Meniscus Area*), aunque más allá de la medición en sí, se plantea como un protocolo clínico completo para la toma de éstas.

De forma general, y como posteriormente desarrollaremos más en profundidad, el TMA es considerado hasta la fecha en la literatura el parámetro más preciso y fiable para determinar el diagnóstico de los sujetos con ADDE, lo que sugiere que debe ser el parámetro empleado para demostrar su validez. Pero, aunque el TMA es un buen indicador de los pacientes ADDE, por sí sólo no puede proporcionar información sobre pacientes eminentemente EDE, como también se desarrollará a lo largo de esta tesis, por lo que se hace necesario explorar qué diferencias pueden ser observadas en la geometría del menisco lagrimal en estos últimos.

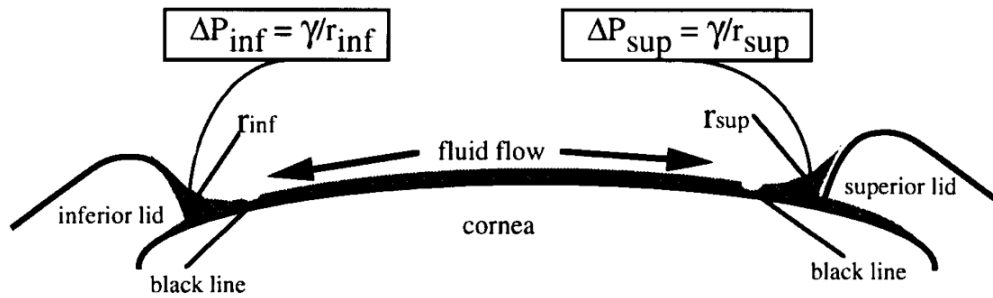
Será por ello preciso establecer una referencia previa, estudiando una muestra de población lo más amplia posible, en función de su sexo y a lo largo de la vida.

Existen algunas evidencias en el análisis del TMR, con respecto a los cambios que en el ojo seco se producen en la tensión superficial y viscosidad de la lágrima. Se ha propuesto por ejemplo relación entre el TMR medido por meniscometría por reflexión y el grado de capa lipídica lagrimal medido por interferometría (Ibrahim et al., 2010).

Como se observa en la Figura 1.18, según el modelo de dinámica lagrimal propuesto por McDonald y Brubaker en 1971, varios segundos después del parpadeo se produce un flujo de

lágrima desde la película lagrimal (con mayor presión hidrostática) hacia las líneas negras superior e inferior (de menor presión), que finalmente llega hasta el menisco lagrimal (el de menor presión).

T.R. GOLDING ET AL.



**Figura 1.18. Dibujo que explica la reducción que se produce en la presión hidrostática del menisco (Golding, Bruce y Mainstone, 1997).**

Las líneas negras son las dos zonas inmediatamente adyacentes al menisco superior e inferior, donde, como veíamos anteriormente, se produce el adelgazamiento de la película lagrimal. Sugirieron que la reducción de la presión hidrostática ( $\Delta P$ ) en cada menisco puede derivar de la ecuación de capilaridad:  $\Delta P = \gamma (1/r_1 + 1/r_2)$ ; donde  $\gamma$  es la tensión superficial del fluido,  $r_1$  el radio de curvatura del menisco lagrimal (TMR), y  $r_2$  la componente vertical del radio de curvatura de la tira que forma el menisco a lo largo del párpado. Como quiera que ésta última puede considerarse casi plana, su componente vertical será muy grande, y por tanto  $1/r_2$  despreciable. Por ello, la presión hidrostática negativa de cada menisco lagrimal será directamente proporcional a la tensión superficial del fluido lagrimal e inversamente proporcional a su curvatura. De esta forma, al evacuarse parte del fluido lagrimal a través del punto lagrimal con el parpadeo, la presión hidrostática negativa generada en el menisco puede inducir que el fluido se sustituya por el de la película lagrimal. A medida que de nuevo se llena el menisco, se vuelve menos cóncavo, con lo que disminuirá la presión por capilaridad, manteniéndose así un límite en la cantidad de fluido que entra en el menisco, y que los autores (McDonald y Brubaker, 1971) denominaron como “servomecanismo”.

En los casos con MGD, las alteraciones sufridas en la capa lipídica se pueden esperar que conduzcan a aumentar la tensión superficial del fluido lagrimal (Doane, 1994), y por ello aumentar la presión hidrostática manteniendo en teoría unos radios menos curvados.

## INTRODUCCIÓN

## **CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

## HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

## 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

### Hipótesis de trabajo:

- 1.- El método LIMA es un sistema de valoración válido y fiable en el cálculo del área del menisco lagrimal.
- 2.- Los parámetros del menisco lagrimal, cuantificados con el método LIMA, se ven alterados con la edad en la población.
- 3.- El sexo influye en los resultados geométricos obtenidos del menisco lagrimal valorado con el método LIMA.
- 4.- Existen diferencias geométricas de determinados parámetros medidos con el método LIMA en sujetos asintomáticos versus sujetos con síntomas y signos de sequedad ocular.
- 5.- El método LIMA es un sistema válido de clasificación del ojo seco no relacionado con otras enfermedades de la superficie ocular.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS



Objetivos:

1. Objetivo principal: Validar el método LIMA como prueba para la medida del área del menisco lagrimal mediante la imagen tomográfica proporcionada por un AS-OCT.

1.1.- Comparar los resultados del área LIMA con los aceptados previamente en la literatura especializada realizados a través del procesado externo de imagen, sobre muestras separadas de meniscos grandes y pequeños.

1.2.- Analizar la fiabilidad del método LIMA inter-observador e intra-observadores.

2. Objetivos secundarios:

2.1.- Valorar la evolución con la edad en una muestra de población de los parámetros geométricos del menisco lagrimal: A, B, y los obtenidos a través del método propuesto: R,  $\vartheta$ , y el área LIMA.

2.2.- Comparar si existen diferencias entre sexos en los parámetros geométricos analizados.

2.3.- Indagar si existen cambios en los parámetros geométricos del menisco, sobre un grupo de pacientes sanos y otros dos que presenten DED, clasificándolos en base a sus características en eminentemente ADDE y eminentemente EDE.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

## **CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODO**

## MATERIAL Y MÉTODO

### 3. MATERIAL Y MÉTODO

#### 3.1. Condiciones de la prueba

Las pruebas han sido desarrolladas en el establecimiento sanitario de óptica "Optivista" de Vélez-Málaga (NICA 34887). La situación geográfica de este municipio hace que tenga una temperatura media anual de 18,1 grados centígrados (°C), con variaciones entre los 11,5 °C de enero y los 25,8 °C de agosto ([climate-data.org](http://climate-data.org)). Para minimizar la influencia estacional a lo largo del año, o la hora del día en la que se realicen, se procedió a un aclimatamiento previo de cada sujeto de un mínimo de 20 minutos en condiciones ambientales controladas, con temperatura a 22 °C y una humedad próxima al 50%.

#### 3.2. Instrumentación

Las pruebas se han desarrollado con un dispositivo OCT Maestro (*Topcon, TKY, Japan*) con módulo de polo anterior (AS-OCT), versión del *Software*: 6.70.003.03. El instrumento tiene una velocidad de escaneo de 50.000 A-Scans por segundo, con una resolución lateral de 20 µm y máxima de 6 µm.

Como aplicación externa para la medida del menisco lagrimal se ha empleado el software ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>).

La lámpara de hendidura empleada ha sido Topcon SL-D701 S (*Topcon, TKY, Japan*) de fuente de iluminación LED, con filtro excitador y filtro de barrera para visualización fluoresceínica, y cámara DC-4 que permite adicionalmente la fotografía de las glándulas de Meibomio combinada con el emisor infrarrojo BG-5. Para el tratamiento de las imágenes fotográficas se ha empleado el programa informático Topcon *Imagenet DC-4 grabber*, versión de *Software*: 1.01.

#### 3.3. Criterios generales de inclusión-exclusión

Por la imposibilidad de obtener tomografías del menisco lagrimal, han sido descartados directamente para cualquier muestra del estudio a todos aquellos sujetos que presentaran entropión, ectropión, ptosis inferior o cualquier otro tipo de alteración palpebral inferior evidente sin necesidad de magnificación.

Para no alterar los resultados, los pacientes que se instilasen cualquier tipo de colirio, lágrima artificial o espray liposomal, no podían haberlos utilizado con un mínimo de 2 horas de antelación a las pruebas. En caso de ser usuarios de lentes de contacto, se les requirió no haberlas portado durante las 24 horas anteriores a las pruebas.

### 3.4. Sujetos y muestras

Comenzando con la preceptiva firma del Consentimiento Informado (Anexo II), rubricado por su madre, padre o tutor legal en el caso de incapacitados o de menores de edad, se han recabado las muestras que se relacionan a continuación:

#### 3.4.1. Muestra 1. Validez del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal

Obtenida a partir del ojo derecho de los primeros 80 pacientes, con edades comprendidas entre los 10 y los 79 años, que acudieron a consulta para examen optométrico y aceptaron participar en el estudio.

Esta muestra se subdividió para su estudio separado en dos grupos de 40 sujetos en función del tamaño del área del menisco lagrimal, por un lado los meniscos más grandes, y por otro los meniscos más pequeños.

Se ha utilizado para validar los resultados obtenidos de las mediciones del área realizadas con el método LIMA, tomando como referencia las realizadas con el *software* externo ImageJ.

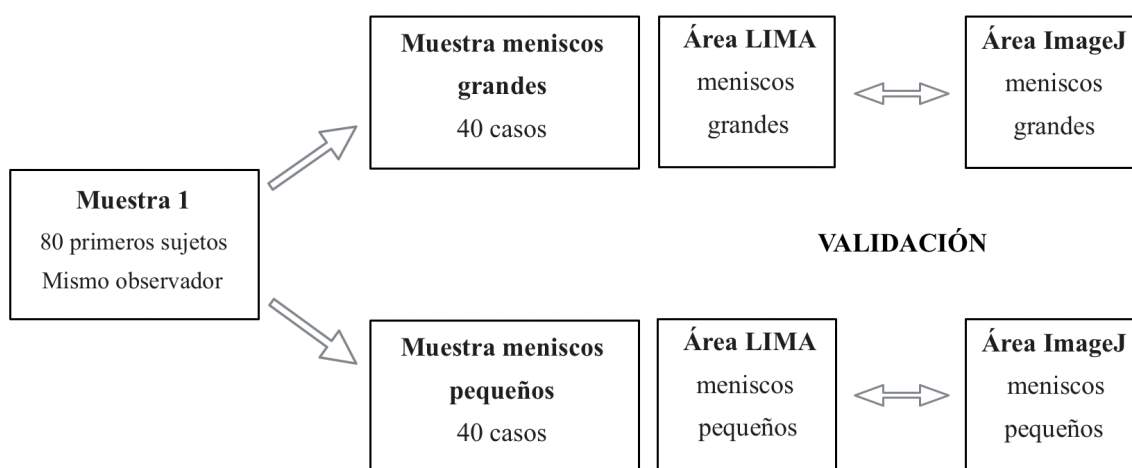
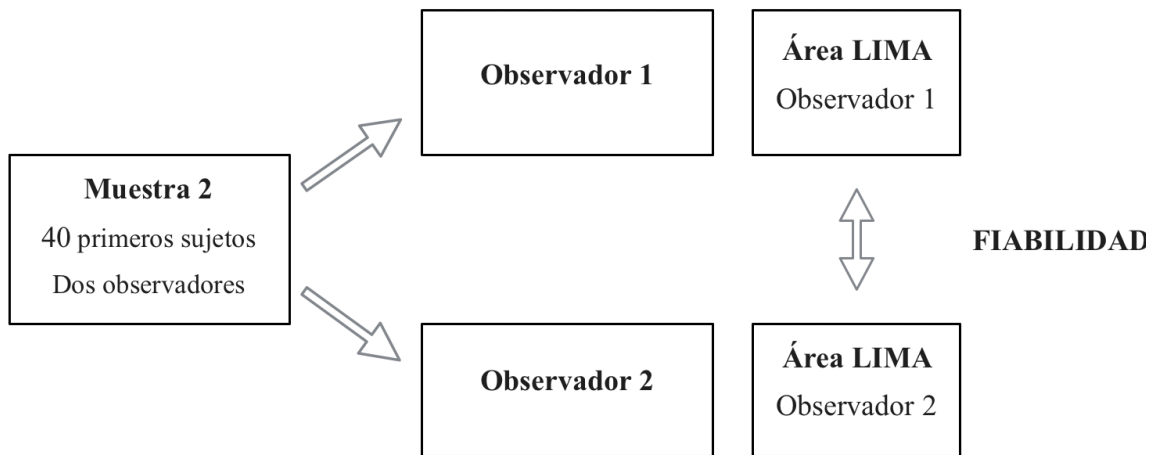


Figura 3.1. Resumen de elección y comparación muestra 1.

**3.4.2. Muestra 2. Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal**

Para determinar la fiabilidad de los resultados, el área de las imágenes tomográficas de los primeros 40 sujetos de la muestra 1 han sido medidas utilizando el método LIMA por dos observadores diferentes para comprobar el acuerdo entre ambos. El observador 1 es el autor del trabajo, y el observador 2 otro optometrista, previamente entrenado en el protocolo de medición (Zhou et al., 2009).



**Figura 3.2. Resumen de elección y comparación muestra 2.**

**3.4.3. Muestra 3. Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal**

Para determinar la precisión, se ha seleccionado al azar de forma previa a la toma de muestras a un grupo de 40 sujetos entre la muestra total de pacientes. Ambas mediciones del área utilizando el protocolo LIMA se han realizado por el mismo observador, realizando las tomografías en aproximadamente el mismo lugar del párpado inferior, y en un intervalo aproximado de 2-3 minutos para determinar la repetibilidad del método propuesto.

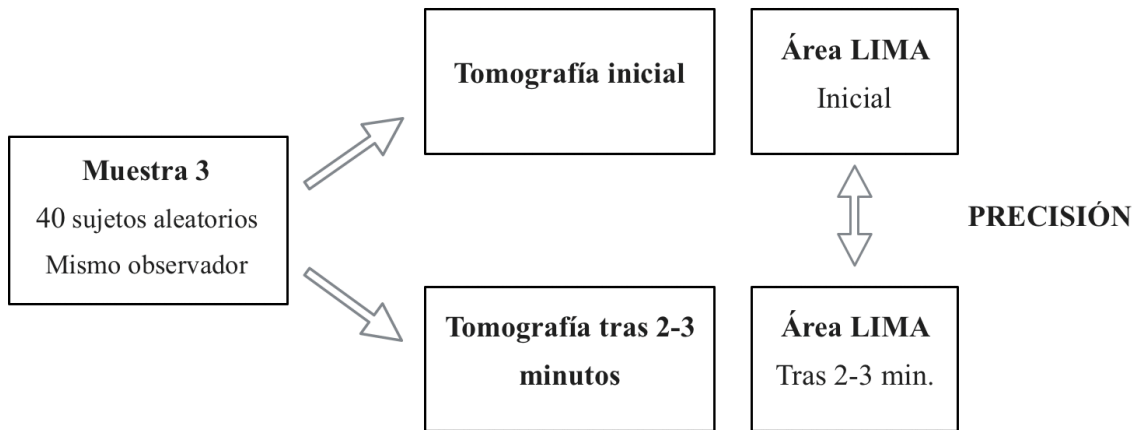


Figura 3.3. Resumen de elección y comparación muestra 3.

**3.4.4. Muestra 4. Evolución con la edad, y diferencias entre sexos, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA**

Los sujetos de la muestra 1 se incrementaron de forma aleatoria, hasta completar 20 muestras válidas por cada década de edad, en una franja desde los 10 a los 79 años, y en grupos homogéneos de pacientes de sexo tanto masculino como femenino, lo que suma un total de 280 sujetos que componen la muestra 4.

Estos grupos de muestras han sido necesarios para analizar la evolución con la edad y las variaciones entre sexos de las medidas del menisco realizadas con el método LIMA.

EDAD (Años)							
SEXO	10 a 19	20 a 29	30 a 39	40 a 49	50 a 59	60 a 69	70 a 79
<b>Masculino</b>	M1 (n = 20)	M2 (n = 20)	M3 (n = 20)	M4 (n = 20)	M5 (n = 20)	M6 (n = 20)	M7 (n = 20)
<b>Femenino</b>	F1 (n = 20)	F2 (n = 20)	F3 (n = 20)	F4 (n = 20)	F5 (n = 20)	F6 (n = 20)	F7 (n = 20)

Figura 3.4. Resumen de elección muestra 4.

**3.4.5. Muestra 5. Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA**

Además de que los pacientes cumplieren los criterios de exclusión vistos en la sección 3.3., de forma particular para esta muestra se descartaron también aquellos pacientes que en menos de



seis meses se hubiesen sometido a cirugía de cataratas o necesitado de tratamiento farmacológico tópico ocular, así como también otros que hubiesen sufrido con anterioridad traumas en globo ocular o en anexos, y cirugía refractiva con menos de seis meses de antelación, ectasias, tapones lagrimales o trasplantes de córnea.

De entre los pacientes valorados en la muestra 4 se han seleccionado tres grupos, por un lado aquellos sujetos susceptibles de presentar criterios de ojo sano, y por otro los de padecer formas eminentemente ADDE o eminentemente EDE. Estas muestras se han empleado para comparar los diferentes parámetros del menisco y analizar sus diferencias.

Para el caso de las muestras seleccionadas como DED, siguiendo la clasificación propuesta en los informes del subcomité de definición y clasificación del DEWS (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop, 2007*) y del de diagnóstico del MGDW (Tomlinson et al., 2011), se han seleccionado únicamente aquellos casos que presentaron formas eminentemente ADDE (padeciesen o no el Síndrome de Sjögren) ó EDE, incluyendo en estas últimas las disfunciones de las glándulas de Meibomio (MGD) de secreción baja en sus subcategorías hiposecretora simple y cicatricial.

La clasificación entre los casos con ADDE y EDE se realizó, por un lado, considerando un menor flujo de lágrima en los casos con ADDE, y por otro, que en los casos con EDE se va a ver alterado el fluido meibomiano en su calidad o expresión, y las glándulas de Meibomio pueden obstruirse o perderse (Bitton, Keech, Simpson y Jones, 2007). Para evitar en lo posible formas mixtas, los casos diagnosticados con ADDE debieron estar por debajo del criterio de corte establecido en cuanto a cantidad de lágrima, pero no mostrar alteración en el fluido meibomiano o la integridad de las glándulas de Meibomio. A la inversa, los casos clasificados como EDE debieron estar por debajo de los criterios de corte establecidos en al menos 2 de estos últimos signos y presentar una cantidad de lágrima aceptable.

Se han excluido por tanto otras formas de DED no primario (salvo SS), por lo que se ha procedido a identificar a todos los pacientes con sospecha de padecer alguna forma de OSD, como se vio en el apartado 1.3.2. Entre las que tienen su origen en enfermedades del párpado, la MGD hipersecretora y la blefaritis anterior. Entre las que afectan a la superficie ocular, las conjuntivitis alérgicas o postrefractivas (de más de seis meses de evolución), y las queratoconjuntivitis crónicas (infecciosas o no).

El grupo de sujetos sanos se seleccionó a posteriori, tomando como base la elección de pacientes en un rango de edad similar a los grupos de ADDE y EDE. Los sujetos sanos estaban ausentes de: 1) presencia de síntomas, 2) daño epitelial ocular, y 3) alteración cuantitativa y cualitativa de la lágrima. Siguiendo los criterios indicados en estos talleres (*The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop, 2007; Tomlinson et al., 2011*), para la selección inicial del grupo de DED se deberán dar los dos primeros requisitos más una alteración cuantitativa o cualitativa de la lágrima.

El número final de los sujetos clasificados en cada grupo (Sanos, ADDE y EDE) de la muestra total de población recopilada, se pueden encontrar posteriormente en el capítulo de resultados.

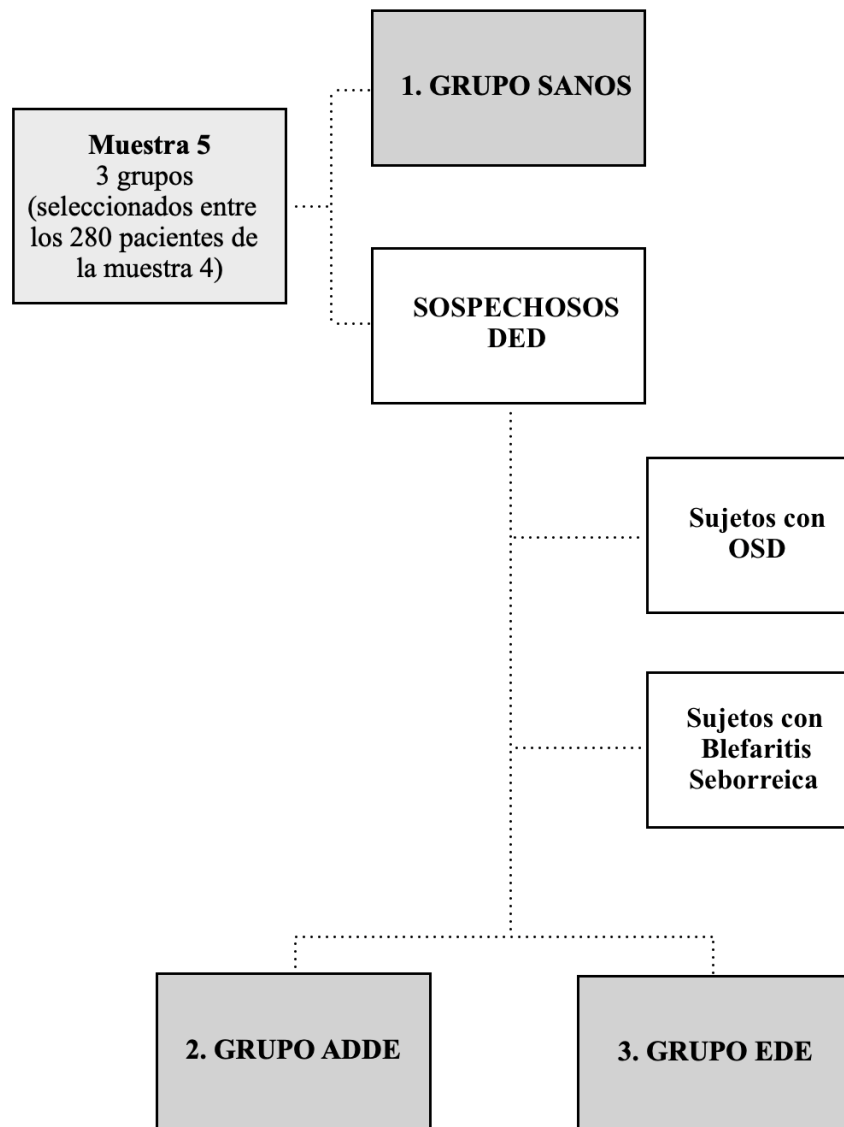


Figura 3.5. Resumen de elección muestra 5.

### 3.5. Pruebas realizadas

El informe del subcomité de diagnóstico del TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017) señala que, al no existir una única prueba diagnóstica de la DED y su severidad, es importante que la selección de las medidas de corte minimice los sesgos de espectro, que se producen al elegir grupos de sujetos de comparación con características muy diferentes frente a la población real.

Por otro lado, en lo que compete a esta investigación, este informe recuerda que hay que evitar el sesgo de selección, que ocurre cuando la eficacia de las medidas usadas en la selección y diferenciación de sujetos son comparadas directamente con un nuevo test que no fue usado como parte del criterio de inclusión.

Recomienda también que para aumentar la sensibilidad (capacidad de un test para dar como casos positivos los realmente enfermos) y la especificidad (capacidad de dar como negativos los realmente sanos) simultáneamente, se expanda un vector de entrada de diagnóstico que incluya múltiples dimensiones. En el diagnóstico de la DED, la sensibilidad se aumenta utilizando tests de forma paralela si uno de esos signos característicos medidos resulta anormal. Esta sensibilidad en paralelo se calcula substrayendo el producto de las dos sensibilidades individuales de los tests de su suma, mientras que la especificidad se calcula mediante el producto de las especificidades individuales. Por este motivo, es deseable añadir tests adicionales, pues siempre irán aumentando la sensibilidad total en paralelo, pero es importante que se dé más importancia a aquellos con una más alta especificidad individual, pues su producto va en detrimento de la especificidad total en paralelo.

Finalmente, recomienda en el caso de ensayos clínicos, el realizar otras pruebas adicionales y tener en cuenta otros aspectos más específicos que le sean relevantes, como los factores medioambientales, realizando las pruebas de forma que se ejecuten en orden de menor a mayor alteración de la TFLL o la superficie ocular.

Centrándonos en el objetivo 2.3 de este trabajo, y tal como se desarrolla en la discusión de esta tesis, se han escogido por tanto aquellas pruebas que maximicen la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico del DED, con una lógica limitación a la competencia profesional e instrumental en el campo de la optometría clínica.

Se han procurado utilizar igualmente para este objetivo final las escalas más fiables, así como los valores de corte más precisos para cada prueba, de entre las reconocidas en la bibliografía consultada para el diagnóstico del DED y su clasificación.

### 3.5.1. Cuestionarios previos

#### 3.5.1.1. Test OSDI

El cuestionario OSDI (Anexo IV), es un test diseñado en un principio para *screening* de DED, permitiendo evaluar la severidad de los síntomas en escala de porcentaje de forma directa. Este test subjetivo proporciona una rápida valoración de la irritación ocular producida por la enfermedad y su impacto en las funciones relacionadas con la visión. Es un cuestionario *online* con 12 puntos en los que se pregunta al paciente por el grado de los síntomas oculares a lo largo de un periodo de 2 a 4 semanas antes de la visita. Cada una de las preguntas se valora de 0 a 4. La puntuación total se obtiene:  $OSDI = (\text{suma puntuación total} \times 100) / (\text{número de preguntas contestadas})$ . La puntuación del test va de 0 a 100, y por sus resultados, se pueden clasificar en cuatro grupos (Miller et al., 2010): normal (0-12), leve (13-22), moderado (23-32) y severo (33-100). El índice de severidad que proporciona se expresa por tanto en porcentaje, y a partir de una puntuación de 13% se considera la existencia de síntomas de DED (Schiffman et al., 2000).

Se ha empleado para diferenciar en la muestra 5 los casos con DED de los sanos, incluyéndose en el primer grupo a aquellos pacientes que presentaron síntomas leves, moderados, o severos, según la escala de severidad del DEWS (valor de corte  $\geq 13$ ).

#### 3.5.1.2. Cuestionario específico

Se obtuvieron del paciente los siguientes datos personales (Anexo III):

- Sexo
- Edad
- Hábitos: si era usuario de LC en los 6 últimos meses, fumador de al menos 5 cigarrillos al día, trabajo frecuente en exterior o interior (aire acondicionado o calefacción), su actividad física semanal y el uso medio diario de dispositivos electrónicos.
- Padecimiento de enfermedades sistémicas con repercusión sobre la película lagrimal: diabetes (tipo y años de tratamiento), hipertensión arterial, artritis, sarcoidosis, acné rosácea, atopía, ictiosis, lupus, síndrome de Stevens-Johnson, psoriasis, dermatitis

seborreica, enfermedades tiroideas, o hiperplasia prostática. Sensación de sequedad bucal que provoque dificultades para deglución.

- Medicación actual: embarazo, anticonceptivos, tranquilizantes, antidepresivos, anti-psicóticos, diuréticos, anticoagulantes, uso de dispositivo CPAP (equipo para el tratamiento de la apnea de sueño a través de la Presión positiva continua en la vía aérea, del inglés, *Continuous Positive Air Pressure*) en pacientes con apnea de sueño, glaucoma (fármaco utilizado).
- Traumatismos: ocasionados con un mínimo de 6 meses de anterioridad en globo ocular, párpado, o anexos.
- Parálisis faciales, ptosis superior: ocasionadas con un mínimo de 6 meses de anterioridad al examen.
- Diagnósticos previos oculares: ojo seco inespecífico, Síndrome de Sjögren, o MGD. Tratamiento seguido en los últimos 6 meses.
- Historial de enfermedades oculares previas: graves (herpes oculares, tracoma, úlceras recidivantes, ectasias corneales), leves recidivantes (orzuelos, blefaritis, conjuntivitis, queratitis), o crónicas (conjuntivitis alérgica, pterigium con más de 1 mm de solapamiento sobre córnea, o presencia de pingüéculas).
- Intervenciones quirúrgicas oculares: trasplantes oculares, cataratas o lentes intraoculares, cirugía refractiva (PRK o LASIK), Cross-linking, glaucoma (iridectomía o trabeculectomía), cirugía del párpado o de las vías lagrimales, y tapones lagrimales.

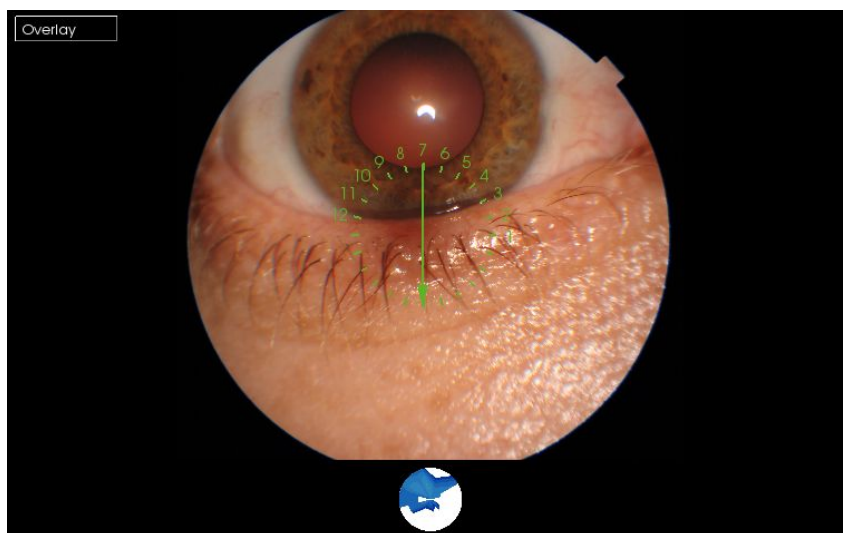
### **3.5.2. Pruebas no invasivas a mínimamente invasivas**

#### **3.5.2.1. AS-OCT para la toma de medidas del menisco lagrimal inferior con método LIMA**

El protocolo de toma de medidas del menisco lagrimal con OCT aplicando el método LIMA, tal como se establece de forma general, se realiza en condiciones mesópicas de iluminación (aproximadamente unas 3 cd/m<sup>2</sup>), apoyando la cabeza del paciente en posición vertical sobre la mentonera del dispositivo, indicando a éste que mire al objetivo de fijación de forma que se encuentre en posición primaria de mirada con respecto al objetivo del instrumento. Pero a diferencia de la literatura consultada, donde no se especifica, es importante que en caso de que el borde del párpado inferior no solape la córnea, se pida al paciente que mire ligeramente hacia abajo (o se baje el objetivo de fijación si el instrumento lo permite) hasta que lo haga. Esto tiene

como objetivo que no se realicen las mediciones del menisco sobre la zona conjuntival o limbal, sino directamente sobre la superficie corneal.

La estrategia de examen utilizada dependerá del dispositivo empleado. Habrá de emplearse aquella que proporcione la mejor resolución en un escaneo lineal orientado en el eje 90°-270°, centrando el escaneo lo más próximo al borde del párpado inferior en su proyección horizontal bajo el centro de la pupila (Figura 3.6).



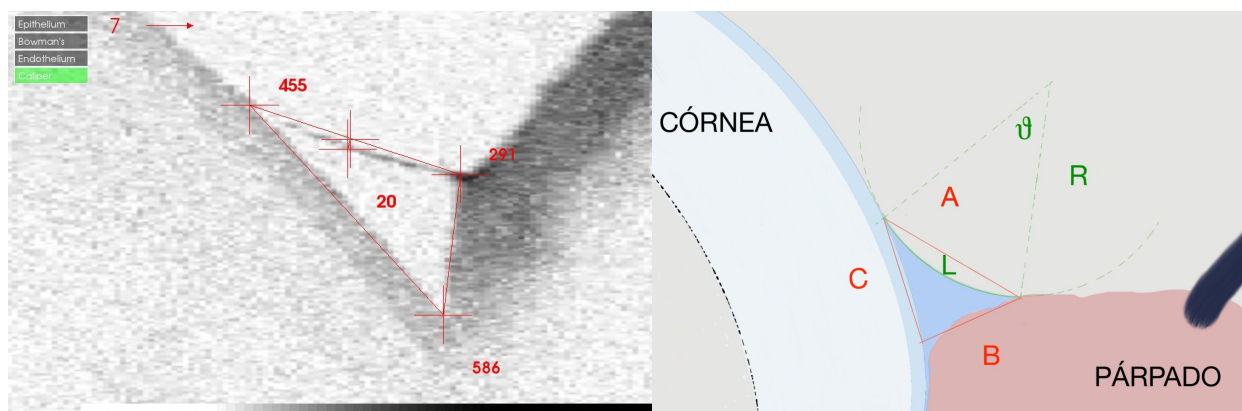
**Figura 3.6.** Imagen de la posición de captura con OCT Maestro (*Topcon, TKY, Japan*). En el caso de este instrumento se ha utilizado la estrategia de examen radial para polo anterior, que realiza 12 B-Scans en los diferentes meridianos, de los que se toma como referencia el vertical (7 en la fotografía). (Archivo de pacientes de Optivista)

Habrán de considerarse también las características del dispositivo utilizado para que la captura efectiva de la imagen se realice entre 2.5 y 4.5 segundos tras el parpadeo, y repetir el proceso en caso necesario hasta obtener una imagen con la suficiente calidad para ser evaluada. En el caso del instrumento utilizado en este trabajo, las capturas se han realizado entre 1 y 2 segundos después del parpadeo, teniendo en cuenta un tiempo de reacción del OCT Maestro (*Topcon, TKY, Japan*) de aproximadamente 2 segundos.

El trazado que emplea el método LIMA se realiza a través de 4 medidas lineales, realizadas directamente sobre la imagen tomográfica obtenida ampliada aproximadamente 200 veces, con la propia herramienta de medición que incorporan la mayoría de los instrumentos, y que en el caso de los dispositivos más antiguos puede realizarse con un software externo de manera muy

simple. Estas son: la altura del menisco (A) o equivalente de TMH, la profundidad del borde palpebral (B) o equivalente de TMD, la altura corneal del menisco (C), y la ságita formada por la cara externa del menisco (L). Se empieza marcando A desde la intersección del borde superior de la cara externa del menisco con la córnea hasta el punto aproximado de contacto con el borde del párpado inferior. A partir de este punto se traza otro segmento que englobe de forma media la irregularidades del borde del párpado inferior hasta su unión con la córnea. Para terminar de formar un triángulo, se unirían los dos puntos marcados sobre la córnea. Finalmente se traza la mayor distancia apreciable perpendicularmente entre el reflejo visible del menisco lagrimal y la línea A que hemos denominado L, medida que correspondería aproximadamente a la ságita de ese segmento circular, donde A sería la cuerda de ese segmento.

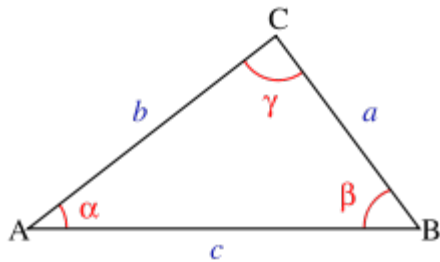
Tal como podemos ver en la Figura 3.7, el interés por este método radica, más allá de la aplicación universal para cualquier dispositivo AS-OCT, en que matemáticamente proporciona información de otros parámetros geométricos: el radio de curvatura que forma la cara externa del menisco o R (que equivaldría a TMR), y la relación que puede guardar éste con A y que hemos denominado ángulo de contacto ( $\vartheta$ ), parámetro sobre el que no consta investigación previa en la bibliografía consultada.



**Figura 3.7.** A la izquierda, se observa una imagen ampliada de la tomografía AS-OCT del menisco lagrimal inferior. Sobre ésta (en color rojo) se han trazado con la herramienta de medición del propio instrumento los 4 parámetros necesarios para la medición: A, B, C y L. (Archivo de pacientes Optivista). A la derecha, un dibujo similar del menisco lagrimal (sombreado en azul). En color rojo se han trazado: A, B y C. Midiendo la ságita (L) del segmento circular formado por A y la curvatura externa del menisco, puede calcularse el área del segmento circular, y descontarla del área del triángulo formado por A, B y C. En verde también podemos ver las otras dos medidas que proporciona el método LIMA, el radio de curvatura de la cara externa del menisco (R), y el ángulo de contacto ( $\vartheta$ ).

Para el cálculo del área del menisco lagrimal con este método procederíamos de la siguiente manera.

El área del triángulo escaleno formado por A, B y C, puede calcularse matemáticamente con la fórmula de Herón de Alejandría:

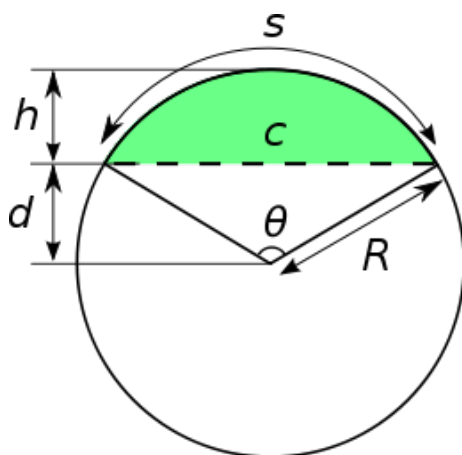


$$\text{Área} = \sqrt{s(s-a)(s-b)(s-c)}$$

Donde S sería el semiperímetro del triángulo:

$$s = \frac{a+b+c}{2}$$

Por otro lado, para calcular matemáticamente el área del segmento circular en función de L y de A debemos conocer también previamente otras magnitudes, como el radio de la circunferencia que lo circunscribe (R o TMR), y el ángulo que delimita su cuerda ( $\vartheta$ ):



$$A = R^2 \cdot \frac{\theta}{2} - \frac{R^2 \sin \theta}{2} = \frac{R^2}{2} (\theta - \sin \theta)$$

Por trigonometría podemos obtener el radio de curvatura de la circunferencia (R) y el ángulo que lo sustenta ( $\vartheta$ ) a partir de la longitud de la cuerda (A) y la ságita (L):

$$R = L/2 + A^2/8L$$

$$\vartheta = 2\text{arccosen } A/2R$$



Una vez conocidas ambas áreas y para concluir, restaríamos al área del triángulo escaleno el área del segmento circular, obteniendo con una sencilla hoja de cálculo la medida del área del menisco lagrimal:

$$\text{Área del menisco (LIMA)} = \text{Área del triángulo escaleno} - \text{Área del segmento circular}$$

Finalmente, para compensar la diferencia de índices de refracción entre el aire y la lágrima, dividiríamos este resultado por 1.343 para obtener el resultado matemático definitivo del área del menisco lagrimal inferior aplicando este método.

Además del área obtenida con el método LIMA, en este trabajo se ha utilizado de forma aislada la altura del menisco A. Este parámetro, equivalente a TMH, y que como hemos visto anteriormente está ampliamente validado en estudios previos para cuantificar la cantidad de lágrima de los pacientes, ha servido para la clasificación como sospechosos de DED de los sujetos de la muestra 5. Por otro lado, A permitirá discriminar entre los dos grupos con ADDE y EDE de secreción baja, ya que como vemos más adelante, en estos últimos se obtienen valores de altura del menisco lagrimal por encima de la media de los primeros.

En este trabajo se ha considerado 180  $\mu\text{m}$  como valor de corte de A, medida suficientemente baja, entre las propuestas por diferentes autores y recogidas en el Anexo VII, como para aumentar considerablemente la especificidad en el diagnóstico.

### 3.5.2.2. AS-OCT para valoración de pliegues conjuntivales paralelos al párpado

Tal como veíamos en la sección 1.3.3.6, los pliegues LIPCOF son indicadores fisiológicos de ojo seco. En esta técnica se realizan dos tomografías verticales de la conjuntiva bulbar en su intersección con el borde del párpado inferior, de forma que si dividimos éste en cuatro partes, una de ellas se centraría aproximadamente en la mitad temporal y la otra en la mitad nasal. A partir de las imágenes se observa el número de pliegues y se emplea la herramienta de medición incorporada al instrumento para medir la altura. Siguiendo el criterio de Berry, Pult, Purslow y Murphy en 2008 adaptado al uso de AS-OCT, se suman los pliegues presentes en la zona nasal y

en la zona temporal (de 0 a 3 en cada una), de forma que se obtiene el valor total LIPCOF de pliegues en la conjuntiva a partir de la siguiente puntuación: 0. Ausencia de pliegues, 1. Presencia de un pliegue claro, 2. Presencia de dos pliegues claros de altura  $< 0,2$  mm, y 3. Presencia de más de dos pliegues con una altura  $< 0,2$  mm.

Estos autores (Berry, Pult, Purslow y Murphy, 2008) propusieron un punto de corte LIPCOF  $\geq 2$ , que se ha escogido en este trabajo como prueba en serie, junto a las tinciones en la superficie ocular, para diferenciar el grupo de sujetos sanos de los DED para la muestra 5.

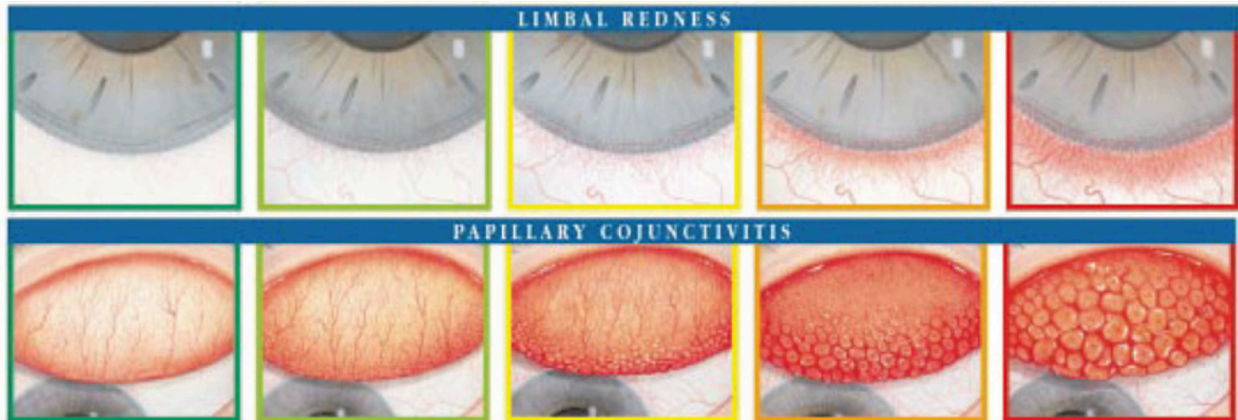
### 3.5.2.3. Biomicroscopía 1. Aspecto

Seguidamente se procedió a la observación de párpados, pestañas y superficie anterior, con iluminación directa y empleando 30 aumentos, lo que sirvió para caracterizar la presencia de:

Blefaritis seborreica, ante secreciones grasas en el borde palpebral (que ampliaremos posteriormente en la sección de expresión de las MGs), collarettes en las pestañas, triquiasis y madarosis (McCulley, Dougherty y Deneau, 1982). Ésta es un tipo de MGD que está asociada a una estabilidad reducida de la película lagrimal (Nelson et al., 2011). Su presencia se empleará como método de cribado en la selección de casos válidos para la muestra 5.

Conjuntivitis alérgica, en cualquiera de sus formas por la presencia de, además de sintomatología compatible, los siguientes signos comunes mayores a grado 2 en la escala de Efron: enrojecimiento conjuntival (que se vio en la Figura 1.15), vascularización limbal (Figura 3.8 superior), además de conjuntivitis papilar gigante (Figura 3.8 inferior). Su detección es también utilizada como motivo de descarte para la muestra 5.

En el caso de la conjuntivitis alérgica estacional normalmente los alérgenos son los pólenes, por lo que presenta síntomas en determinados periodos, que coinciden con la época de floración concreta. En la perenne, normalmente son los componentes del polvo doméstico, por lo que se manifiesta durante todo el año, aunque puede variar su intensidad (Kanski, 2012). Los signos característicos de estas conjuntivitis alérgicas son: hiperemia y/o quemosis conjuntival, edema palpebral, secreción acuosa o mucoacuosa con la presencia de filamentos de mucina, e hipertrofia papilar moderada.(Wolffsohn et al., 2017)



**Figura 3.8. Escalas de gradación Efron para enrojecimiento limbal (superior) y conjuntivitis papilar (inferior). Creada por el Profesor Nathan Efron e ilustrada por Terry R Tarrant. Millennium Edition. Enero 2000. Suplemento del libro *Contact Lens Complications, 2nd edition* de Nathan Efron publicado por Butterworth-Heinemann, 2004, ISBN 0 7506 5534 8.**

La queratoconjuntivitis atópica es una inflamación bilateral crónica potencialmente severa. Afecta de forma frecuente a la conjuntiva tarsal inferior, y al afectar también a la córnea puede amenazar la visión. Está presente en un 95% de pacientes con dermatitis atópica y un 87% de asmáticos. Los signos característicos son el eccema palpebral periorbital, la conjuntivitis (potencialmente cicatrizante), y la neovascularización corneal.(Wolffsohn et al., 2017)

La queratoconjuntivitis vernal es una inflamación bilateral crónica que afecta la conjuntiva, tanto palpebral como bulbar, además de la córnea (en un 50% de los casos). Suele presentarse en varones menores de 10 años, y su intensidad se va atenuando en la pubertad, resolviéndose en la mayoría de los casos, o rara vez convirtiéndose en atópica. Entre sus signos clínicos habría que distinguir las dos formas en la que se puede presentar: la palpebral y la límbica. En la forma palpebral, y con predominio en la conjuntiva tarsal superior, puede avanzar desde una leve reacción papilar en fases precoces, hasta papilas gigantes (mayores a 1 mm) en fases avanzadas; y el exceso en la secreción de moco que puede formar una pseudomembrana sobre las papilas gigantes. En la forma límbica pueden observarse nódulos límbicos y puntos de Tantras situados sobre ellos. También pueden encontrarse otros signos como: micropannus, SPK (sobre todo en zona superior corneal), úlceras corneales en escudo en esa misma zona, cicatrización subepitelial corneal, y seudogerontoxón (arco amarillento situado en la córnea perilímbica superior).(Kanski, 2012)

La conjuntivitis papilar gigante es una inflamación normalmente bilateral de las papilas (mayores a 0.3 mm) relacionada principalmente con un trauma de la placa tarsal superior por el uso de lentes de contacto o puntos de sutura postquirúrgicos. Sus signos pueden ser progresivos: desde una fina reacción papilar en su forma leve, pasando por estados intermedios leves y moderados, hasta papilas en conjuntiva tarsal superior mayores a 0.75 mm en casos graves; también podemos encontrar inyección tarsal, ptosis, e hiperemia conjuntival moderada.(Kanski, 2012)

La dermatconjuntivitis atópica afecta a la conjuntiva y los párpados, ante diversos alérgenos entre los que a nivel oftalmológico podemos encontrar: fenilefrina, atropina, anestésicos tópicos, antivíricos, pomadas de neomicina, colirios antiglaucomatosos (especialmente los derivados adrenérgicos), y los conservantes de algunos colirios (como el cloruro de benzalconio y el timerosal). Entre otras muchas causas puede ser también debida a: rímel, lápiz y sombra de ojos, o algunos jabones. No tiene secuelas a nivel corneal, y por tanto visual. Sus signos frecuentes son, en la conjuntiva: hiperemia bulbar y del saco conjuntival inferior, con edema y eritema de la conjuntiva con reacción folicular sin adenopatías preariculares. En la dermatitis palpebral asociada puede observarse edema y eritema del párpado.(Kanski, 2012)

Conjuntivitis infecciosas o parasitarias, entre las que podemos encontrar diferentes tipos de OSD que pueden alterar la TFL, y cuya detección también será motivo para el descarte de sujetos para la muestra 5.

Dentro de las infecciones virales encontramos principalmente las adenovíricas, que producen habitualmente dos tipos de cuadros, la fiebre faringoconjuntival y la queratoconjuntivitis epidémica; las producidas por herpes simple, herpes zóster, virus de Epstein-Barr, picornavirus, molusco contagioso; y las derivadas de infecciones víricas sistémicas como la rubeola, las paperas, e influenza.(Wolffsohn et al., 2017)

Entre las infecciones bacterianas, menos comunes que las anteriores (Wolffsohn et al., 2017), la forma más común es una afección de corta duración, que puede ser unilateral o bilateral, producida por diversos tipos de gérmenes, fundamentalmente: estafilococos *Aureus* (la más común en adultos) y *Epidermidis*, estreptococos y gram-negativos como *Moraxella* y *Haemophilus Influenzae* (más común en niños junto al estreptococo) (Kanski, 2012). Otras bacterias, como la *Neisseria gonorrhoeae* y la *Neisseria meningitidis* producen la conjuntivitis

bacteriana hiperaguda, a través del contacto con secreciones de la uretra. La *Chlamydia trachomatis* produce la conjuntivitis de inclusión del adulto, y en muchos casos se asocia también a sintomatología de los órganos sexuales. El tracoma, o conjuntivitis granular está causado por esta bacteria parásita intracelular, con inflamación corneal, cicatrización conjuntival, obliteración de los ductos de las MGs y células de Goblet, induciendo complicaciones por DED. Otras infecciones bacterianas poco frecuentes pueden estar producidas por Meningococos, Neumococos, Gonococos y *Micobacterium*.(Kanski, 2012)

Las infestaciones parasitarias como la producida en las pestañas por la *Phthirus pubis* produce un picor muy intenso. Se observan las liendres que afectan las pestañas y que pueden provocar conjuntivitis folicular.(Kanski, 2012) Los ácaros *Demodex brevis* y *Demodex folliculorum* son ectoparásitos microscópicos comunes que viven en la superficie del cuerpo humano. La infestación se relaciona con la edad, con un 84% de la población a los 60 años y de un 100% por encima de los 70 años. Pueden desprenderse de la cara a los párpados, encontrándose al primero en las pestañas y el segundo en el interior de las glándulas sebáceas de las pestañas y las MGs. En ambos casos también pueden alimentarse de las células epiteliales tanto del folículo como de las glándulas, por lo que puede producir daños en el borde del párpado.(Wolffsohn et al., 2017) Finalmente añadir otros organismos protistas como la *Acanthamoeba*, que pueden penetrar al estroma corneal (Kanski, 2012).

Alteración del borde palpebral, observando presencia de proliferación vascular, irregularidad del borde palpebral, desplazamiento de la UMC, o alteración del orificio glandular (Tomlinson et al., 2011). Se ha puntuado de 0 a 4 en función del número de hallazgos, sospechando, si se dan al menos 2 de estos signos, la presencia de EDE por MGD obstructiva (Arita et al., 2010).

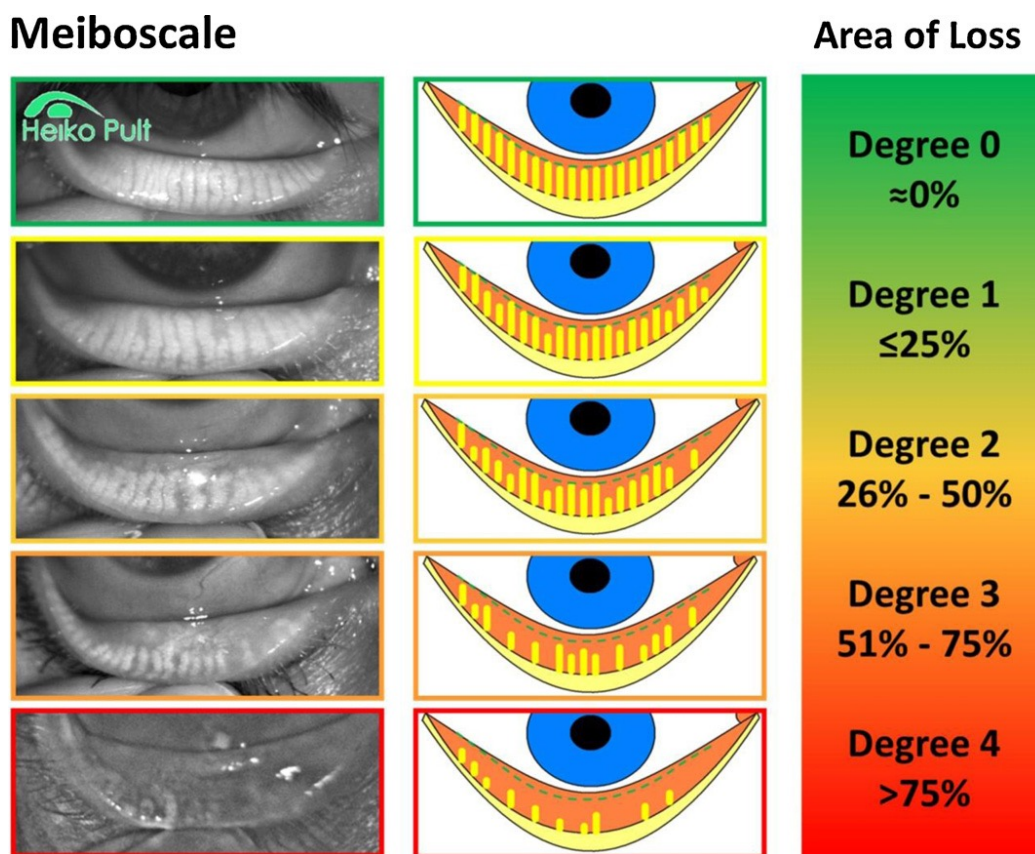
Para determinar el valor de corte de estos signos compatibles con MGD se ha seguido el criterio establecido por Foulks y Bron en 2003. Teniendo en cuenta el máximo valor sobre la longitud total del párpado superior, se establecen 4 niveles de inflamación del margen palpebral en función del grosor: 0 = normal, 1 = medio, 2 = moderado y 3 = severo. Su valor de corte se considera mayor o igual a grado 1 (aunque este signo no ha sido empleado en este trabajo). La vascularización del margen del párpado se mide en función de su congestión con la misma escala anterior, y su valor de corte mayor o igual a grado 2. Este último valor de corte también se aplica a la presencia de teleangiectasias, que se gradan como: 0 = ninguna, 1 = una, 2 = más de dos, y 3 = más de cinco. En cuanto a los orificios, se analizan en las 10 glándulas centrales del

párpado superior, el número de los que pueden observarse, y aquellos que presentan taponamientos o signos cicatriciales. Se establece un valor de corte para todos ellos de mayor o igual a 2.

### 3.5.2.4. Meibografía sin contacto

Siguiendo con las condiciones mesópicas de iluminación ambiental y gracias a la aplicación específica del biomicroscopio utilizado, se realizó una fotografía por infrarrojos con el objetivo de 16 aumentos de la integridad de las MGs del párpado inferior. Posteriormente se analizó porcentualmente por comparación con imágenes de referencia la extensión de la pérdida glandular (MGL), a través del método propuesto por Pult y Riede-Pult en 2013, con una escala de gradación de cinco niveles: 0. Sin pérdida, 1. < 25%, 2. 25% - 50%, 3. 51% -75 %, y 4. > 75% (Figura 3.9).

Se estableció un punto de corte mayor o igual a grado 2 para diferenciar los casos de MGD obstructiva de los clasificados como ADDE, siguiendo el criterio de Arita et al. en 2010.



2012© Dr. Heiko Pult – Optometry & Vision Research, Germany [www.heiko-pult.de](http://www.heiko-pult.de)

**Figura 3.9.** Escala de severidad de cinco niveles propuesta por Pult y Riede-Pult en 2013 para la gradación de la pérdida de glándulas de Meibomio, y su equivalencia con el factor de pérdida glandular (MGL).

### 3.5.3. Pruebas mínimamente invasivas

#### 3.5.3.1. Biomicroscopía 2. Fluorescencias

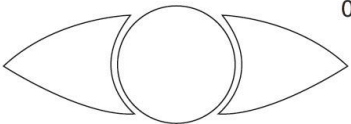

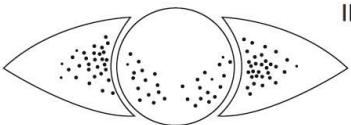
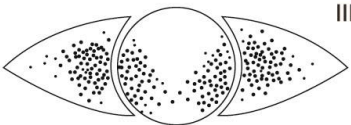
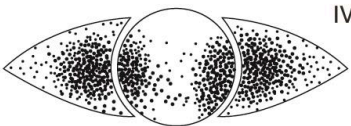
Seleccionando las aplicaciones para visión de fluorescencias que dispone la lámpara de hendidura utilizada, y empleando 25-40 aumentos, en primer lugar se descartó la presencia de signos compatibles con otras OSDs.

Entre éstos, en la córnea habría que incluir la queratitis epitelial punteada, la queratitis puntiforme superficial de Thygeson, la queratitis con forma estrellada por infección primaria por herpes, la queratitis filamentosa, y la queratoconjuntivitis límbica superior (Jones, 1960; Duke Elder y Leigh, 1965). Aunque hay también otro tipo de lesiones que se observan como punteados fluorescentes sobre la córnea, formados por acumulación de pigmento y acompañados de bolas de mucina (Jones y Jones, 2001; Ladage et al., 2002; Morgan y Maldonado-Codina, 2009) y los teñidos de microquistes epiteliales (Bron y Tripathi, 1973; Bron, Argueso, Irkec y Bright, 2015)

Posteriormente se realizaron de forma consecutiva las dos pruebas siguientes:

Cuantificación del tiempo de ruptura lagrimal (FBUT), siguiendo el criterio de Johnson y Murphy en 2005, considerando la media de 3 medidas realizadas 20-30 segundos después de la instilación de 1-2 microlitros de fluoresceína sódica al 2% con tira de papel impregnada, y tras 3 parpadeos, del tiempo transcurrido en formarse los primeros puntos oscuros. Este test se empleó para la medida de la estabilidad de la película lagrimal, que se consideró de buena calidad a partir de 10 segundos (Guillon y Guillon, 1994). Valores de corte de 5 segundos o menores se consideraron para la diferenciación de los sujetos sanos de aquellos sospechosos de DED (Albelson et al., 2002).

Valoración con el esquema Oxford (Bron, Evans y Smith, 2003) de la integridad de la superficie ocular, a través de la gradación de teñidos en la zona corneal y las dos zonas conjuntivales adyacentes (Figura 3.10.). Tal como se recomienda, se elevó levemente el párpado superior del paciente, haciéndole mirar a ambos lados sobre la horizontal para la visualización de las tres zonas analizadas.

Panel	Staining pattern	Grade	Criteria
A		0	Equal to or less than panel A
B		I	Equal to or less than panel B, greater than A
C		II	Equal to or less than panel C, greater than B
D		III	Equal to or less than panel D, greater than C
E		IV	Equal to or less than panel E, greater than D
>E		V	Greater than panel E

**Figura 3.10. Esquema Oxford de gradación de teñidos en la superficie ocular. (Bron, Evans y Smith, 2003)**

Se ha puntuado cada una de las tres zonas en una escala de 0 a 5 (rango total de 0-15). Se ha tenido en cuenta un nivel de severidad levemente sintomático del DED, según la escala de gradación del DEWS, y para una clara diferenciación frente al grupo de sujetos sanos se ha considerado como valor de corte los casos iguales o superiores a una puntuación de 3 (Tomlinson et al., 2011) en alguna de las zonas, o de una puntuación total de las tres zonas mayor o igual a 6.

### 3.5.4. Pruebas moderadamente invasivas

#### 3.5.4.1. Test de Schirmer 1 sin anestesia

Para cuantificar la producción lagrimal por el reflejo estimulado al insertar una tira de papel filtro 5x35 milímetros Whatman N°1 en el tercio temporal del saco conjuntival inferior del paciente, que permanecerá sentado con los ojos cerrados y en posición primaria de mirada



durante 5 minutos, en condiciones mesópicas de iluminación. Una vez retirada, se mide la distancia entre la marca y el borde impregnado. (Nichols et al., 2011)

En esta tesis, siguiendo las recomendaciones del subcomité de diagnóstico del MGDW (Tomlinson et al., 2011), ha sido utilizado en un primer momento como una de las condiciones en la muestra 5 para aquellos casos sospechosos de DED por bajo volumen lagrimal, y en un segundo momento para, en serie con el parámetro A, clasificar los grupos de ADDE (si su resultado es menor o igual a 5,5 mm) y EDE (si es mayor o igual a 7 mm).

### 3.5.4.2. Expresión de las glándulas de Meibomio

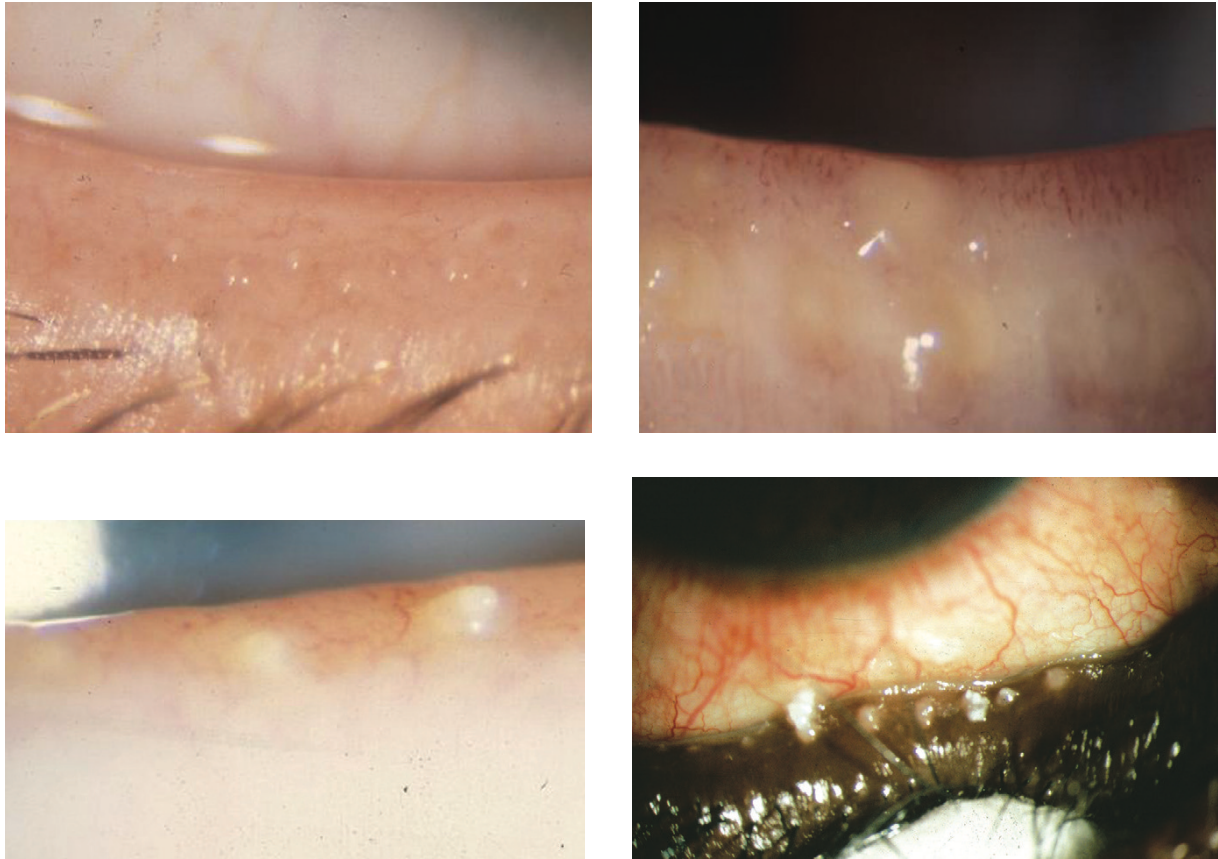
Utilizando el método tradicional (Tomlinson et al., 2011), se realiza una presión digital en el tercio central del borde palpebral inferior durante 10-15 segundos (Korb y Blackie, 2008) con la máxima fuerza que sea tolerable por el paciente, observándose la expresión de meibo (en una escala de 0 a 3) que se produce en los orificios de las 5 glándulas centrales del párpado inferior.

La observación se realiza utilizando la lámpara de hendidura con 40 aumentos e iluminación directa, en condiciones de iluminación ambiente mesópicas. De acuerdo con el número de glándulas expresivas se puntúa: 0, todas las glándulas; 1, de tres a cuatro glándulas; 2, de una a dos glándulas; y 3, ninguna. Se empleará para clasificar el EDE hiposecretor a partir de grado 1. (Tomlinson et al., 2011)

### 3.5.4.3. Calidad del sebo meibomiano

Se evalúa en cada una de las ocho glándulas del tercio central del párpado inferior en una escala del 0, claro; 1, turbio; 2, turbio y con detritos (granular); y 3, espeso, como pasta de dientes (rango de puntuación total de 0-24), según el criterio de Foulks y Bron en 2003, del que puede verse una descripción fotográfica en la Figura 3.11.

Se ha considerado un valor de corte de 10 para clasificar los casos de EDE de baja secreción (Tomlinson et al., 2011).



**Figura 3.11. Método de gradación propuesto por Foulks y Bron en 2003. En el caso de la fotografía superior izquierda, donde la secreción expresada por las glándulas de Meibomio observadas es clara, se puntúa como 0. En el caso de la superior derecha, la secreción es turbia y se puntuaría con 1. En la fotografía inferior izquierda se observa una secreción expresada de forma copiosa, turbia y granular, puntuando con 2. Por último, en el caso de una expresión solida o pastosa que es expresada con dificultad se puntúa con 3. Se puntúan por separado cada una de las 8 glándulas centrales del párpado inferior, obteniéndose finalmente la puntuación total del test sumando los resultados individuales.(Foulks y Bron en 2003)**

**3.5.5. Resumen de algoritmos de diferenciación y clasificación de grupos de la muestra 5**

Algoritmo de diferenciación sujetos muestra 5						
	Síntomas		Daño superficie ocular		Cantidad de lágrima	Calidad de lágrima
Grupo sanos	OSDI < 13%	+	Oxford < 3 (1 zona) ó Oxford < 6 (3 zonas) y LIPCOF < 2	+	Shirmer > 5.5 y A ≥ 180 μm	y FBUT > 10 seg
Sospechosos DED	OSDI ≥ 13%	+	Oxford ≥ 3 (1 zona) ó Oxford ≥ 6 (3 zonas) y LIPCOF ≥ 2	+	Shirmer ≤ 5.5 y A < 180 μm	ó FBUT ≤ 5 seg

**Tabla 3.1. Resumen del algoritmo que diferencia, en un primer momento, entre sujetos sanos y sospechosos de presentar ojo seco (DED). Para ser clasificados en uno u otro grupo, deben cumplirse los puntos de corte que afectan a los síntomas y al daño a la superficie ocular. Además, en el caso del grupo de sujetos sanos los que afectan a la cantidad y calidad de lágrima, pero en el el caso de los sospechosos de DED los que afecten a la cantidad o calidad de lágrima.**

Algoritmo de clasificación sospechosos DED (descartadas otras OSDs) muestra 5											
	Meibografía*		Alteración borde del párpado*		Expresión Meibo*		Calidad Meibo*		Schirmer		A
	*Deben cumplirse 2 de los cuatro signos										
Grupo ADDE	< 2	ó	< 2	ó	≤ 1	ó	< 10	+	≤ 5.5	y	< 180 μm
Grupo EDE	≥ 2	ó	≥ 2	ó	> 1	ó	≥ 10	+	≥ 7	y	≥ 180 μm

**Tabla 3.2. Resumen del algoritmo que clasifica a posteriori como acuodeficientes (ADDE) o evaporativos (EDE), los casos sospechosos de ojo seco (DED) obtenidos de la muestra 5, una vez que se han descartado todos aquellos sujetos que presentaran alguna otra enfermedad de la superficie ocular (OSDs). Para ser clasificados en uno u otro grupo, deben cumplirse al menos dos de los cuatro signos que afectan a los párpados, además de cumplirse ambos signos que afectan al volumen lagrimal. En el caso de presentar alteración en el borde del párpado, se puntúa del 1 al 4 en función de la presencia de cualquiera de estos signos: proliferación vascular, irregularidad del borde, desplazamiento de la unión mucocutánea, o alteración del orificio de las glándulas de Meibomio, en un grado mayor a dos en su escala respectiva.**

### 3.6. Análisis estadístico

La estadística descriptiva y analítica de los datos obtenidos ha sido realizada a través del programa “SPSS Statistics” Versión 25 (IBM Corp.) y para el cálculo de potencias estadísticas el programa “G\*Power” 52.6.11 (HHU).

Para el estudio del comportamiento que siguen los datos, se ha aplicado el test de Kolmogorov-Smirnov si el número de muestras era superior a 50, o el de Shapiro-Wilk si era inferior a 50 muestras, considerando la normalidad cuando el p-valor asociado al estadístico es superior a 0.05.

Para el contraste de hipótesis se ha considerado un intervalo de confianza al 95% (valor  $p < 0,05$ ); riesgo  $\alpha$  de 0,05 y potencia  $(1-\beta)$  de 0,8.

Los métodos estadísticos se han elegido en función de los objetivos planteados, del diseño estadístico, del tamaño de la muestra y del tipo de variables, que pasamos a detallar a continuación:

**Objetivo 1.1.** El diseño estadístico empleado para demostrar la validez del método propuesto, ha sido el de considerar diferencias de la variable dependiente área del menisco, sobre muestras de población de 2 grupos relacionados (ya que se trata del ojo derecho de los mismos sujetos), formado por variables cuantitativas continuas obtenidas a través de dos variables independientes categóricas: método LIMA y método ImageJ (considerado a este último como método de referencia). Y este procedimiento se ha realizado de forma separada en los dos grupos de meniscos: grandes y pequeños.

El t-test de medidas pareadas es el estadístico paramétrico recomendado en este caso, siempre que se cumplan los supuestos de no existencia de valores anómalos y la normalidad en la diferencia de las muestras.

Por otro lado, para comparar el acuerdo entre ambos métodos en la medida del menisco lagrimal de la muestra conjunta de meniscos grandes y pequeños, se ha procedido a realizar el análisis estadístico con el método de Bland-Altman. Para ello, se establece como criterio clínico que las diferencias aceptables entre las medidas no superen más del 10%. De esta forma podremos conocer si los métodos son intercambiables o si existen diferencias, ya que este método proporciona la diferencia media (bias) y los límites de acuerdo (LoAs).

## MATERIAL Y MÉTODO

Para la aplicación de este método es necesario que la variable diferencia no mantenga una correlación lineal con la variable promedio, para lo que se calcula el coeficiente de correlación bivariada de Spearman (si  $> 0.05$ , no existe una correlación lineal entre estas variables).

Por otro lado, aunque no es estrictamente necesario, se recomienda que no existan valores anómalos en las diferencias entre los métodos y que sigan una distribución normal.

Para la interpretación se realiza una representación gráfica del método de Bland-Altman y una regresión lineal.

**Objetivo 1.1. y 1.2.** El diseño estadístico empleado ha sido el de considerar diferencias de la variable dependiente área del menisco, sobre muestras de población de 2 grupos relacionados (ya que se trata del ojo derecho de los mismos sujetos), formado por variables cuantitativas continuas obtenidas a través de dos variables independientes categóricas: por un lado las diferencias obtenidas por dos observadores distintos, y por otra las diferencias obtenidas en un breve espacio de tiempo (2-3 minutos).

El coeficiente de correlación intraclase (CCI) permite evaluar el acuerdo entre observadores o la repetibilidad, y es aplicable en nuestro caso al tratarse de variables continuas, pero siempre que se muestre normalidad en las muestras y que no se produzca un error sistemático (ANOVA) entre las medidas realizadas.

Tanto para evaluar el acuerdo entre observadores como la repetibilidad entre medidas, el modelo de CCI a aplicar sería el de tipo 3, o dos factores con efectos mixtos para medidas individuales, ya que se ha realizado por los mismos observadores (en el primer caso), y en el mismo intervalo de tiempo (2-3 minutos en el segundo).

En ambos casos, también se va a proceder a calcular el coeficiente de repetibilidad para estas muestras, realizando un análisis ANOVA que proporciona la media cuadrática entre grupos, siendo la repetibilidad ( $S_w$ ) la raíz cuadrada de ese factor, y  $R$  o coeficiente de repetibilidad igual a  $1.96 \times \sqrt{(S_w \times 2)}$ .

**Objetivo 2.1.** El diseño estadístico empleado para valorar la evolución con la edad, ha sido el de considerar diferencias en la media sobre los 7 grupos independientes (formados conjuntamente por hombres y mujeres por cada década de edad entre los 10 y los 80 años), medidos bajo la misma variable dependiente compuesta por los 5 parámetros del menisco lagrimal a analizar por separado.

El test recomendado en un principio en este caso es el ANOVA de medidas independientes y un factor. Para su aplicación deben de cumplirse para cada uno de los grupos la independencia de las observaciones (que ya sabemos que se cumple pues se analiza sólo el ojo derecho y no hay sujetos que estén en más de un grupo de edad), y la no existencia de valores anómalos, la distribución debe ser aproximadamente normal, y las varianzas de los grupos debe ser iguales (que veremos si se cumplen en cada uno de los parámetros por separado).

En el caso de no cumplirse los supuestos, el test alternativo a aplicar sería el Kruskal-Wallis para muestras no paramétricas, que analiza las diferencias entre las distribuciones/medianas entre más de dos grupos independientes. Pero deben cumplirse para cada uno de los grupos la independencia de las observaciones (que ya sabemos que se cumplen como hemos visto antes), y se debe evaluar si las distribuciones en cada grupo de la variable independiente tienen una forma similar (que también veremos para cada uno de los parámetros por separado si se cumplen). En el caso que cada uno de los grupos de la variable independiente presenten la misma forma estaremos valorando si existen diferencias entre las medianas de los grupos ( $H_0$  = las medianas entre los resultados de los grupos es igual), pero si tienen distinta forma valoraremos las diferencias en sus distribuciones ( $H_0$  = las distribuciones entre los resultados de los grupos es igual). Si el resultado fuese significativo se aplicará el test de Bonferroni para comparar entre qué muestras se producen diferencias.

**Objetivo 2.2.** El diseño estadístico empleado para valorar la diferencia entre sexos, ha sido el de considerar diferencias en la media sobre los 2 grupos independientes (formados por un lado por el grupo de hombres y por otro por el grupo de mujeres, de la muestra total recopilada entre los 10 y los 79 años), medidos bajo la misma variable dependiente compuesta por los 5 parámetros del menisco lagrimal a analizar por separado.

El test recomendado en un principio en este caso es la t-Student de medidas independientes y un factor. Para la aplicación de este test debe de cumplirse para ambos grupos la independencia de las observaciones (que ya sabemos que se cumple), la no existencia de valores anómalos, la distribución debe ser aproximadamente normal para ambos grupos, y las varianzas de los grupos debe ser iguales (que veremos para cada uno de los parámetros por separado si se cumplen).

En el caso de no cumplirse los supuestos, el test alternativo a aplicar sería la U de Mann-Whitney para muestras no paramétricas, que analiza las diferencias entre las distribuciones/medianas entre dos grupos independientes. Para su aplicación deben cumplirse para cada uno de los grupos la independencia de las observaciones (que ya sabemos que se cumple), y se debe

evaluar si las distribuciones en cada grupo de la variable independiente tienen una forma similar (que veremos para cada uno de los parámetros por separado si se cumplen). En el caso que cada uno de los grupos de la variable independiente presenten la misma forma estaremos valorando si existen diferencias entre las medianas de los grupos ( $H_0$  = las medianas entre los resultados de los dos grupos son iguales), pero si tienen distinta forma valoraremos las diferencias en sus distribuciones ( $H_0$  = las distribuciones entre los resultados de los dos grupos son iguales).

**Objetivo 2.3.** El diseño estadístico empleado para valorar si existen cambios entre los grupos ha sido el de considerar diferencias en la media sobre los 3 grupos independientes (formados por los grupos clasificados como sujetos EDE, ADDE y sanos), medidos bajo la misma variable dependiente compuesta por los 5 parámetros del menisco lagrimal a analizar por separado.

El test recomendado en un principio en este caso es el ANOVA de medidas independientes y un factor. El test ANOVA se aplica por tanto para una variable dependiente continua (en nuestro caso formada por las medidas obtenidas de cada uno de los parámetros del menisco analizados), y una variable independiente categórica formada por más de 2 grupos independientes (en nuestro caso por los tres grupos independientes en función de su clasificación diagnóstica). Los supuestos de aplicación de este test ya los vimos en el objetivo 2.1. En el caso que este test muestre resultados significativos se realizará un análisis post-hoc de Tukey para comprobar los grupos que presentan diferencias.

Si las varianzas de los grupos analizados no fuesen homogéneas, como alternativa al ANOVA se realizará el test de Welch (ya que  $n > 6$  en cada grupo), que en caso de mostrar resultados significativos será complementado con un análisis post-hoc de Games-Howell para comprobar los grupos que presentan diferencias.

En el caso de no cumplirse los supuestos de normalidad en las muestras de los grupos en función de su clasificación diagnóstica para cada uno de los distintos parámetros del menisco lagrimal analizados, el test alternativo al ANOVA a aplicar sería el Kruskal-Wallis.

## MATERIAL Y MÉTODO



## **CAPÍTULO 4. RESULTADOS**

## RESULTADOS

#### 4. RESULTADOS

Se procede a analizar los datos obtenidos para cada uno de los objetivos.

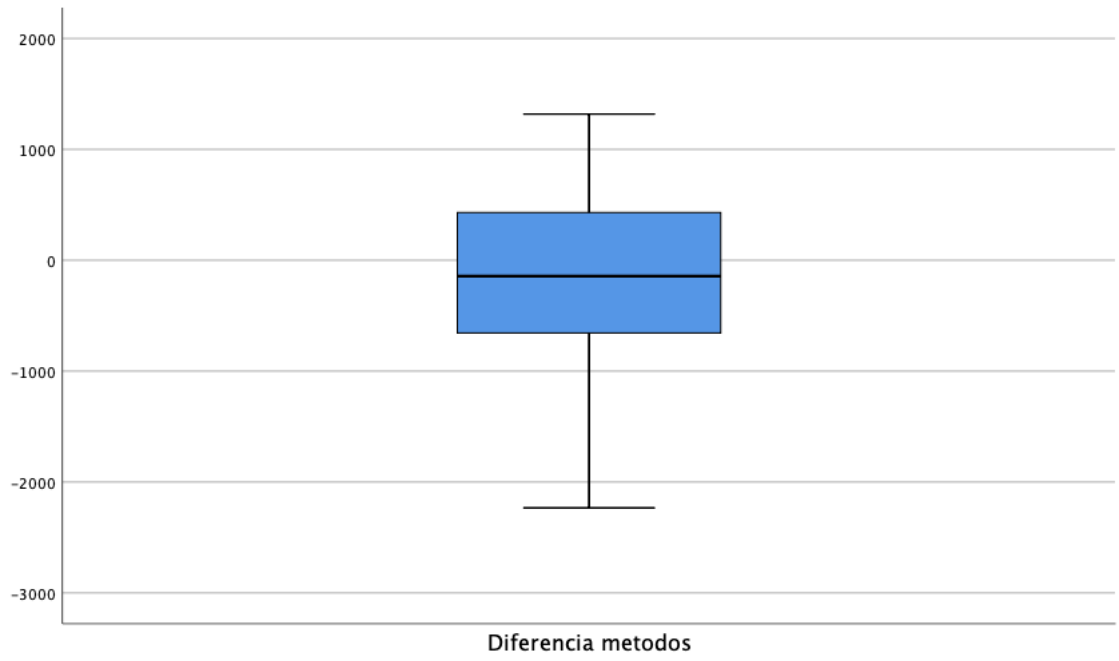
##### 4.1. Validez del método LIMA en la medición del área del menisco

Para valorar el objetivo 1.1. y comprobar si existen diferencias según el tamaño de las medidas y al mismo tiempo disminuir la variabilidad de los resultados, la muestra 1 (con 80 sujetos en total) se ha dividido en dos grupos, 40 sujetos con las medidas del área del menisco más pequeñas, y otros 40 con las más grandes.

<b>Características demográficas de la Muestra 1</b>				
Muestra	Edad (Media $\pm$ DE, años)	Rango de Edad (años)	Hombres-Mujeres (número, porcentaje)	Total sujetos
<b>Meniscos pequeños:</b>	51.80 $\pm$ 14.88	20 - 78	12 (30%) - 28 (70%)	40
<b>Meniscos grandes:</b>	52.43 $\pm$ 19.15	12 - 79	16 (40%) - 24 (60%)	40
<b>Muestra completa:</b>	52.11 $\pm$ 17.04	12 - 79	28 (35%) - 52 (65%)	80

**Tabla 4.1. Datos demográficos de la muestra 1. Se ha especificado en la fila superior la muestra de meniscos más pequeños, en la fila central la muestra de meniscos más grandes, y en la fila inferior la muestra completa. DE: desviación estándar.**

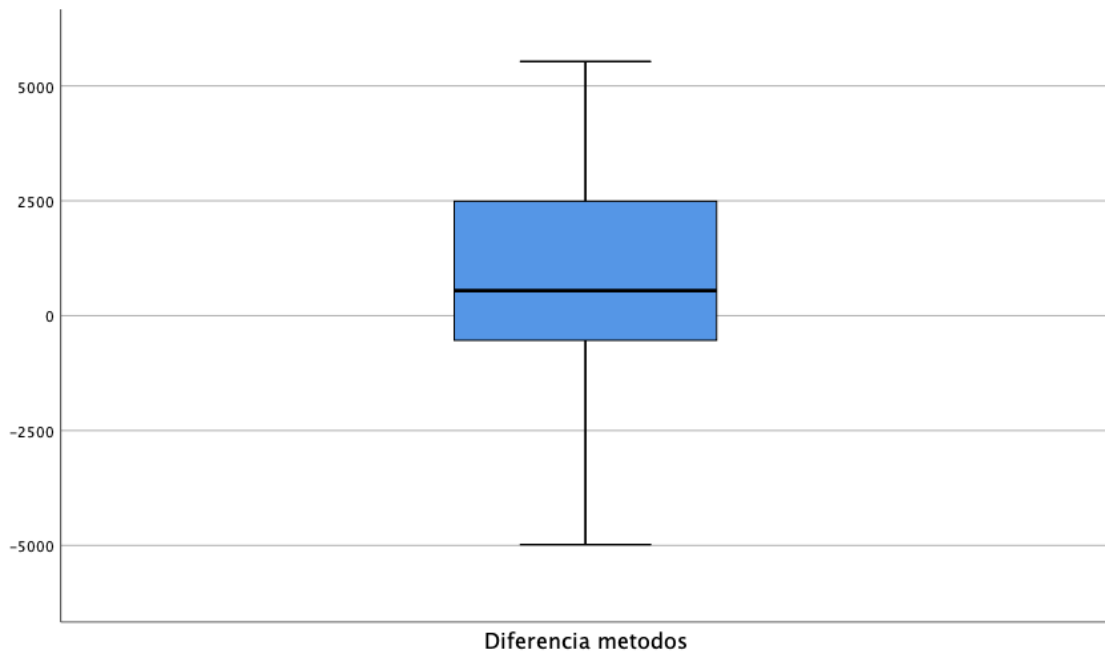
Muestra Meniscos Pequeños



**Figura 4.1. Diagrama de cajas que representa la diferencia entre el método LIMA e ImageJ en la medida del área del menisco lagrimal (expresada en micras cuadradas) de la muestra de meniscos pequeños.**

A través del gráfico de cajas se observa la no existencia de valores anómalos en la diferencia entre las muestras entre meniscos pequeños. Se comprueba la normalidad en la distribución de las diferencias entre las muestras, por lo que realizamos el t-test de medidas pareadas.

En el caso de los meniscos pequeños la media del área del menisco lagrimal medida con el método LIMA es de  $5649.60 \pm 2595.28 \mu\text{m}^2$ , y la medida con el método ImageJ  $5838.63 \pm 2676.64 \mu\text{m}^2$ , m.d.  $-189,02 \mu\text{m}^2$  (95% IC,  $-455.54$  hasta  $67.49 \mu\text{m}^2$ ),  $t(39) = -1.491$ ,  $p = 0.144$ ,  $r = 0.49$ . Al tener p un valor superior a 0.05 no podemos rechazar la hipótesis nula de igualdad de ambos métodos de medida.

Muestra Meniscos Grandes

**Figura 4.2. Diagrama de cajas que representa la diferencia entre el método LIMA e ImageJ en la medida del área del menisco lagrimal (expresada en micras cuadradas) de la muestra de meniscos grandes.**

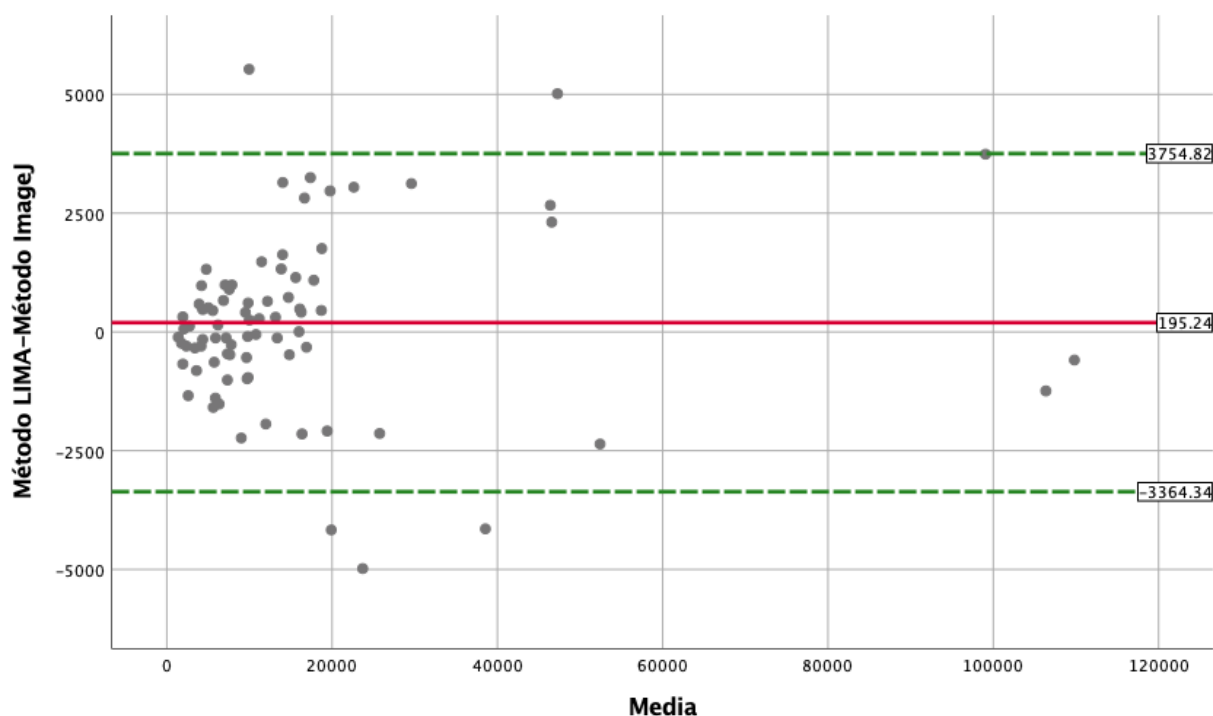
A través del gráfico de cajas se observa la no existencia de valores anómalos en la diferencia entre las muestras entre meniscos pequeños. Se comprueba la normalidad en la distribución de las diferencias entre las muestras, por lo que realizamos el t-test de medidas pareadas.

En el caso de los meniscos grandes el área del menisco lagrimal medida con el método LIMA es de  $27013.00 \pm 25125.47 \mu\text{m}^2$ , y la medida con el método ImageJ de  $26433.87 \pm 25151.02 \mu\text{m}^2$ , m.d.  $579.13 \mu\text{m}^2$  (95% IC, -186.81 hasta  $1345,07 \mu\text{m}^2$ ),  $t(39) = 1.529$ ,  $p = 0.134$ ,  $r = 0.50$ . Al tener  $p$  un valor superior a 0.05 no podemos rechazar la hipótesis nula de igualdad de ambos métodos de medida.

Podemos concluir por tanto que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la forma de medir el área media del menisco lagrimal inferior, ni en los meniscos más pequeños, ni en los más grandes.

Acuerdo entre método LIMA e ImageJ

Sobre la muestra completa de 80 sujetos se realiza una correlación bivariada de Spearman ( $p = 0.135$ ). Al no ser significativo podemos afirmar que no existe una correlación lineal en las diferencias entre las medidas obtenidas con ambos métodos, por lo que se procede a representar el gráfico de Bland-Altman y calcular sus valores:



**Figura 4.3.** Representación del gráfico de Bland-Altman obtenido con SPSS sobre la muestra 1 completa. Eje X: valores medios del área en micras cuadradas del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA y el método ImageJ. Eje Y: diferencia en micras cuadradas entre el método LIMA y el método ImageJ.

El área media de las muestras para ambos métodos de medida calculada sobre esta muestra de 80 casos es de  $16233.77 \mu\text{m}^2$ .

La diferencia media (bias) entre el método LIMA y el método ImageJ es de  $195.24 \pm 1816.11 \mu\text{m}^2$  (95% IC,  $-208.92$  hasta  $599.40 \mu\text{m}^2$ ), siendo por tanto levemente mayores las mediciones realizadas con el método LIMA, aunque la diferencia media calculada es poco más del 1% del área media calculada, muy por debajo de la máxima diferencia clínica aceptable, establecida en un 10%.

Por otro lado, los límites de acuerdo (LoAs) se sitúan entre  $3754.82$  y  $-3364.34 \mu\text{m}^2$ , siendo muy escasos los casos que superan estos límites (dos en el límite superior y tres en el inferior).

## RESULTADOS

Además, realizada una regresión lineal no se obtiene significancia para la media ( $p = 0.390$ ), lo que unido a un coeficiente B muy próximo a 0 (0.009) indica que no hay tendencias en las medidas realizadas con ambos métodos.

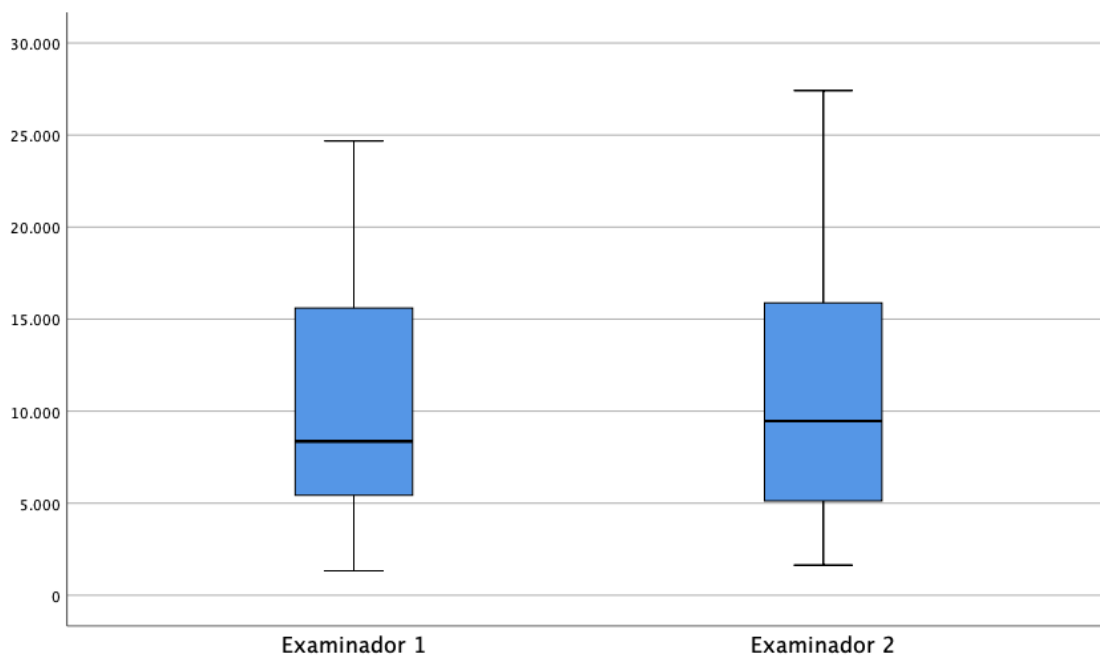
Por todo lo anterior, y no habiendo diferencias significativas entre los métodos, puede afirmarse que el método LIMA puede considerarse válido para la medición del área del menisco lagrimal.

### 4.2. Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco

Para valorar el acuerdo entre dos observadores se ha empleado la muestra 2, compuesta inicialmente por un total de 40 sujetos (14 hombres y 26 mujeres) con una edad media de  $47.68 \pm 19.84$  años en un rango de edad entre 12 y 79 años.

Una vez descartados del análisis los tres valores extremos en la medida del área del menisco lagrimal que presentan ambas muestras inicialmente (sujetos 38, 9 y 2), con esta nueva muestra de 37 sujetos no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad de cada uno de los grupos.

El diagrama de cajas resultante sería:



**Figura 4.4.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos para la medida del área del menisco lagrimal (expresada en micras cuadradas), obtenidos sobre los sujetos de la muestra 2 (descontando tres casos anómalos), por el examinador 1 y el examinador 2.

## RESULTADOS

No se observan valores anómalos en ninguno de los grupos.

Para descartar un error sistemático entre las medidas se realiza un test ANOVA sobre las muestras ( $p = 0.932$ ).

Al cumplirse los supuestos de aplicación, pasamos a calcular el CCI de tipo 3. El resultado final es que la variabilidad entre las medidas realizadas por ambos examinadores presenta un CCI de acuerdo absoluto significativo ( $p < 0.001$ ) para una única medida de 0.983 (95% IC, 0.967 hasta 0.991). Al ser muy próximo a 1 podemos afirmar que el acuerdo entre observadores es muy fuerte cuando se utiliza el método LIMA para la medida del área del menisco lagrimal, por lo que podemos considerarlo un método fiable.

Realizado el análisis ANOVA para estos dos grupos de muestras se obtiene una media cuadrática es de 681984.37, por lo que la repetibilidad  $S_w = 825.82$ , y el coeficiente de repetibilidad  $R = 2287.53$ .

### **4.3. Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco**

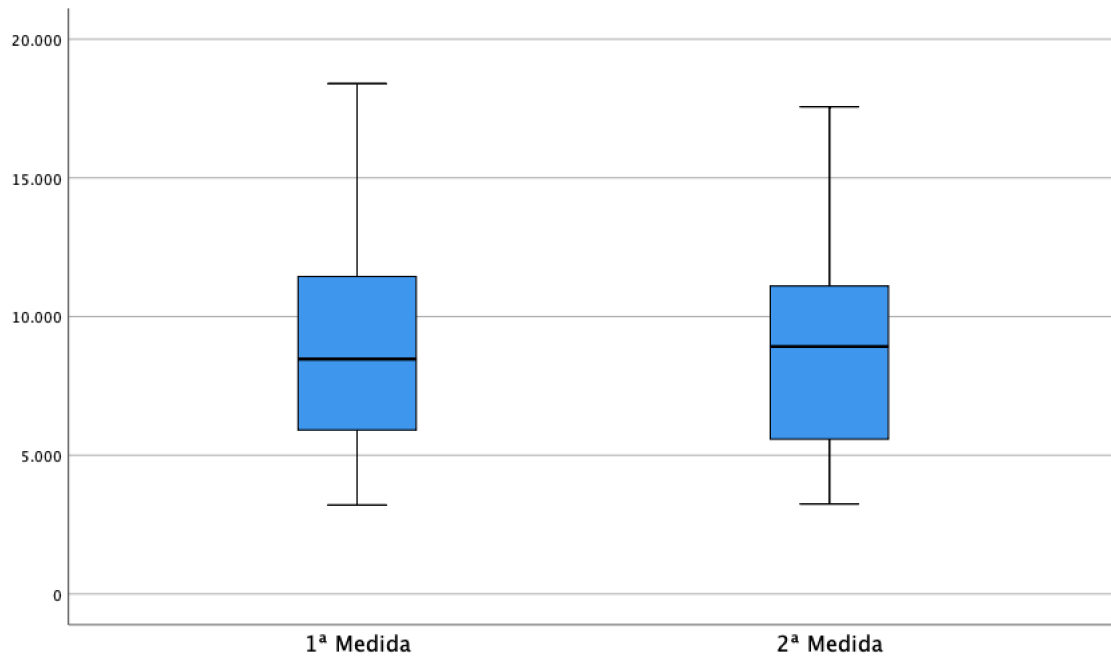
Para valorar la repetibilidad entre medidas separadas un espacio de 2-3 minutos se ha empleado la muestra 3, compuesta inicialmente por un total de 40 sujetos (18 hombres y 22 mujeres) con una edad media de  $40.74 \pm 18.21$  años en un rango de edad entre 11 y 76 años.

Una vez descartados del análisis los cuatro valores extremos que presentan ambas muestras inicialmente (sujetos 23, 1, 32 y 16), con esta nueva muestra de 36 sujetos no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad de cada uno de los grupos.

El diagrama de cajas resultante sería:



## RESULTADOS



**Figura 4.5. Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos para la medida del área del menisco lagrimal (expresada en micras cuadradas), obtenidos sobre los sujetos de la muestra 3 (descontando cuatro casos anómalos), para la medida de la repetibilidad entre dos medidas separadas un espacio de 2-3 minutos.**

No se observan valores anómalos en ninguna de los grupos.

Para descartar un error sistemático entre las medidas se realiza un test ANOVA sobre las muestras ( $p = 0.267$ ).

Al cumplirse los supuestos de aplicación, pasamos a calcular el CCI de tipo 3. El resultado final es que la variabilidad entre las medidas realizadas en un intervalo de 2-3 minutos presenta un CCI de acuerdo absoluto significativo ( $p < 0.001$ ) para una única medida de 0.949 (95% IC, 0.902 hasta 0.973). Al ser muy próximo a 1 podemos concluir que la repetibilidad es muy fuerte cuando se utiliza el método LIMA para la medida del área del menisco lagrimal, por lo que podemos considerarlo un método preciso.

Realizado el análisis ANOVA para estos dos grupos de muestras se obtiene una media cuadrática es de 634195.66, por lo que la repetibilidad  $S_w = 796.36$ , y el coeficiente de repetibilidad  $R = 2205.92$ .

**4.4. Evolución con la edad de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA**

Para este objetivo se ha empleado la muestra 4, compuesta por 280 sujetos divididos en 7 grupos por décadas de edad, cada uno de los cuales está compuesto por 20 hombres y 20 mujeres, 40 en total:

<b>Características demográficas de la Muestra 4 por edad</b>				
Muestra	Edad (Media $\pm$ DE, años)	Rango de Edad (años)	Hombres-Mujeres (número)	Total sujetos
<b>Grupo 1 (10 a 19 años):</b>	14.80 $\pm$ 2.47	10 -18	20 - 20	40
<b>Grupo 2 (20 a 29 años):</b>	23.75 $\pm$ 3.08	20 - 29	20 - 20	40
<b>Grupo 3 (30 a 39 años):</b>	35.30 $\pm$ 3.08	30 - 39	20 - 20	40
<b>Grupo 4 (40 a 49 años):</b>	45.05 $\pm$ 2.89	40 - 49	20 - 20	40
<b>Grupo 5 (50 a 59 años):</b>	54.05 $\pm$ 2.58	50 - 58	20 - 20	40
<b>Grupo 6 (60 a 69 años):</b>	63.90 $\pm$ 3.14	60 - 69	20 - 20	40
<b>Grupo 7 (70 a 79 años):</b>	74.25 $\pm$ 3.01	70 - 79	20 - 20	40

**Tabla 4.2. Datos demográficos de la muestra 4 por los siete grupos de edad en los que ha sido dividida. DE: desviación estándar.**

Sobre esta muestra se procede a analizar por separado la evolución con la edad de los diferentes parámetros obtenidos con el método LIMA: A, B, R,  $\vartheta$  y Área LIMA.

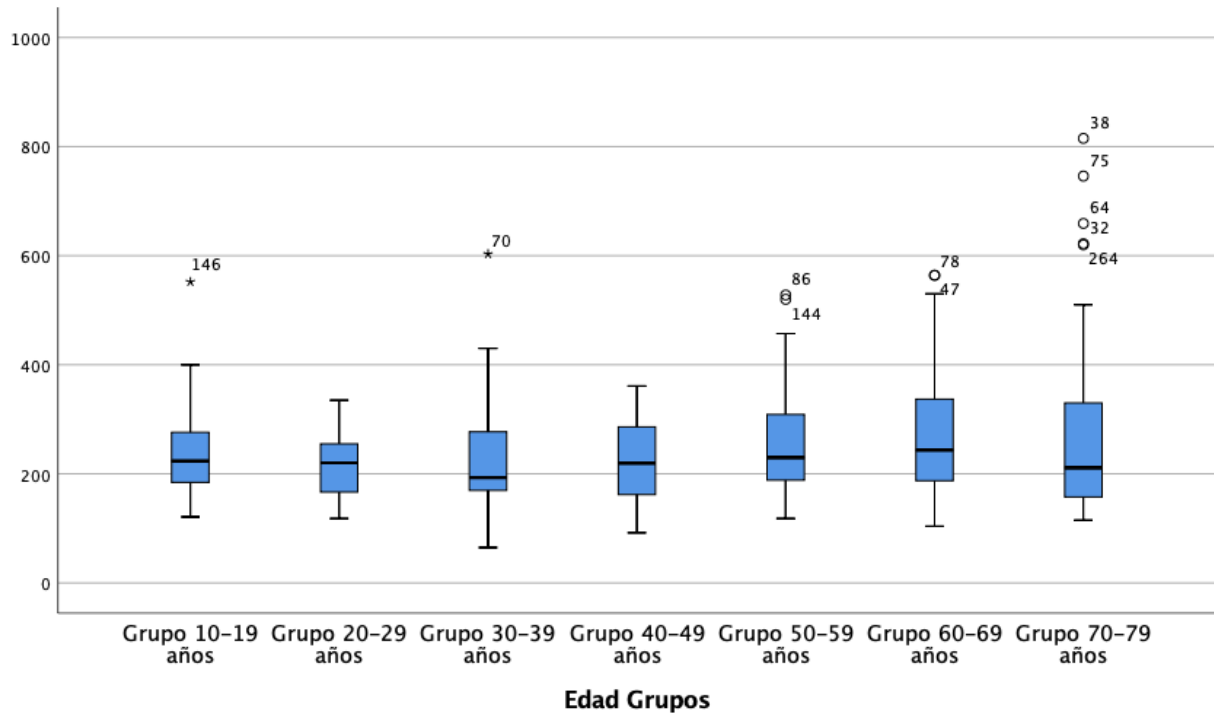
**Evolución con la edad del parámetro A**

<b>Datos descriptivos altura (A)</b>					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Grupo 1:</b>	236.23 $\pm$ 82.13	209.96 - 262.49	223.50	93	121 - 552
<b>Grupo 2:</b>	217.33 $\pm$ 50.08	201.31 - 233.34	220.00	90	118 - 335
<b>Grupo 3:</b>	227.73 $\pm$ 99.11	196.03 - 259.42	193.00	109	65 - 603
<b>Grupo 4:</b>	222.88 $\pm$ 72.47	199.70 - 246.05	219.50	125	92 - 361
<b>Grupo 5:</b>	259.60 $\pm$ 104.64	226.13 - 293.07	230.00	121	118 - 528
<b>Grupo 6:</b>	271.60 $\pm$ 123.10	232.23 - 310.97	243.50	151	104 - 564
<b>Grupo 7:</b>	284.65 $\pm$ 182.30	226.35 - 342.95	211.00	178	115 - 815
<b>Total Grupos:</b>	245.71 $\pm$ 110.84	232.67 - 258.75	221.50	116	65 - 815

**Tabla 4.3. Estadísticos descriptivos de las muestras por grupos de edad obtenidos del parámetro A (altura del menisco). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras**

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

## RESULTADOS



**Figura 4.6. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida de la altura del menisco lagrimal (A) (expresada en micras), obtenidos de los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad.**

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un  $p$ -valor  $< 0.05$  en la prueba de Shapiro-Will, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test ANOVA de medidas independientes, que es sustituido por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de la prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica superior a 0.05, por lo que podemos no rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución de la altura del menisco (A) es la misma entre las categorías de grupos de edad").

Por otro lado, en el diagrama de cajas se observa una distribución similar para los diferentes grupos de edad, con medianas muy parecidas.

Podemos concluir por tanto que la mediana de las alturas del menisco lagrimal (A) son estadísticamente iguales entre entre los 7 grupos de edad ( $p = 0.484$ ).

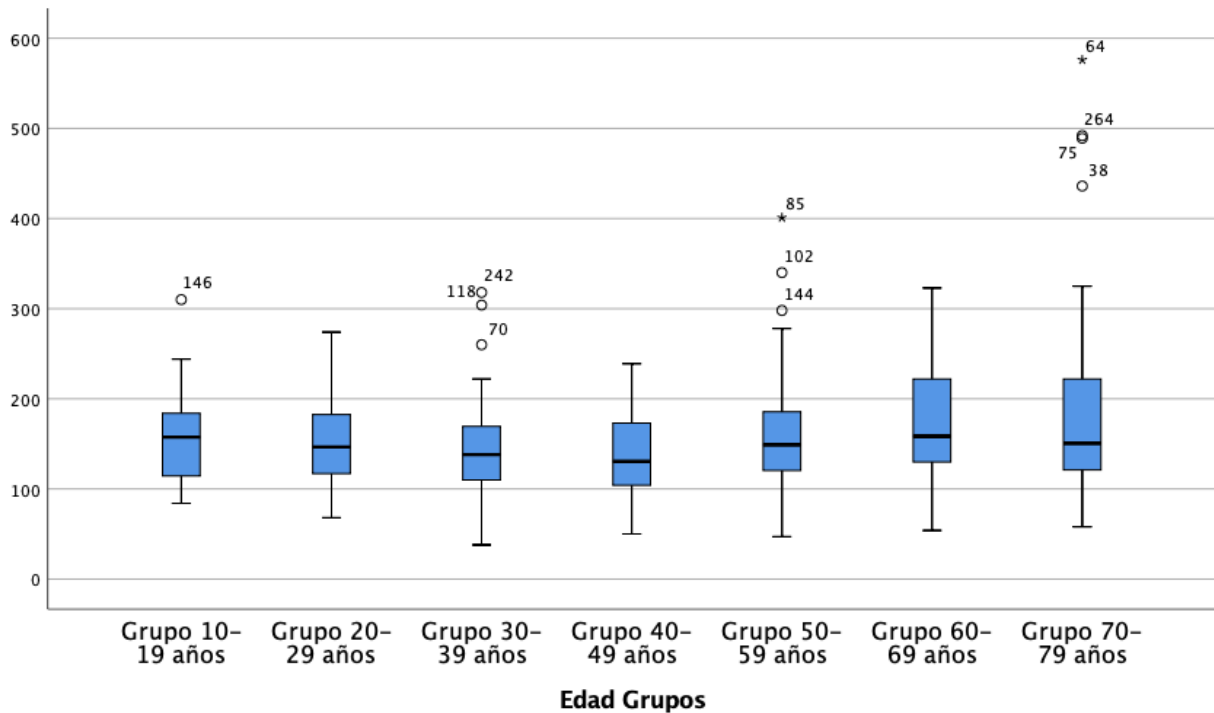
**Evolución con la edad del parámetro B**

<b>Datos descriptivos profundidad (B)</b>					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Grupo 1:</b>	157.50 $\pm$ 48.07	142.13 - 172.87	157.50	70	84 - 310
<b>Grupo 2:</b>	150.65 $\pm$ 45.91	135.97 - 165.33	146.50	66	68 - 274
<b>Grupo 3:</b>	146.50 $\pm$ 58.66	127.74 - 165.26	138.00	60	38 - 318
<b>Grupo 4:</b>	139.85 $\pm$ 47.37	124.70 - 155.00	130.50	73	50 - 239
<b>Grupo 5:</b>	161.55 $\pm$ 73.21	138.14 - 184.96	149.00	66	47 - 401
<b>Grupo 6:</b>	178.15 $\pm$ 68.00	156.08 - 200.22	158.50	93	54 - 323
<b>Grupo 7:</b>	191.45 $\pm$ 122.80	152.18 - 230.72	150.50	105	58 - 576
<b>Total Grupos:</b>	160.81 $\pm$ 72.26	152.31 - 169.31	149.50	74	38 - 576

**Tabla 4.4. Estadísticos descriptivos de las muestras por grupos de edad obtenidos del parámetro B (profundidad del menisco). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras**

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

## RESULTADOS



**Figura 4.7. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida de la profundidad del menisco lagrimal (B) (expresada en micras), obtenidos de los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad.**

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Shapiro-Will, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test ANOVA de medidas independientes, que es sustituido por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica superior a 0.05, por lo que podemos no rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución de la profundidad del menisco (B) es la misma entre las categorías de Grupos de Edad").

Por otro lado, en el diagrama de cajas se observa una distribución similar para los diferentes grupos de edad, con medianas muy parecidas.

Podemos concluir por tanto que la mediana de las profundidades del menisco lagrimal (B) son estadísticamente iguales entre los 7 grupos de edad ( $p = 0.177$ ).

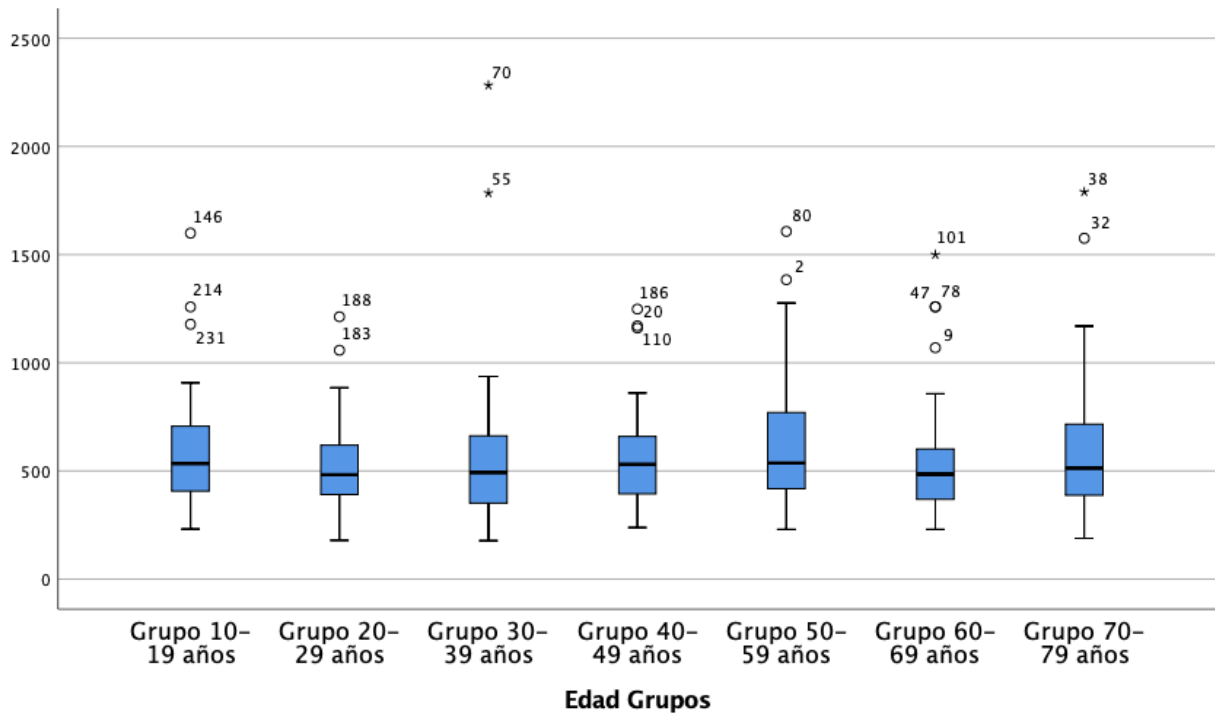
**Evolución con la edad del parámetro R**

<b>Datos descriptivos radio de curvatura (R)</b>					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Grupo 1:</b>	598.58 $\pm$ 281.94	508.41 - 688.75	533.57	304	232 - 1599
<b>Grupo 2:</b>	527.14 $\pm$ 200.75	462.94 - 591.35	482.31	230	179 - 1213
<b>Grupo 3:</b>	579.12 $\pm$ 386.44	455.53 - 702.72	492.73	312	178 - 2283
<b>Grupo 4:</b>	566.48 $\pm$ 239.36	489.93 - 643.03	530.46	282	238 - 1248
<b>Grupo 5:</b>	617.01 $\pm$ 297.98	521.71 - 712.31	536.29	356	230 - 1607
<b>Grupo 6:</b>	555.54 $\pm$ 287.66	463.54 - 647.53	484.83	248	230 - 1500
<b>Grupo 7:</b>	608.40 $\pm$ 354.07	495.16 - 721.63	512.93	342	188 - 1790
<b>Total Grupos:</b>	578.89 $\pm$ 296.66	544.00 - 613.79	505.15	269	178 - 2283

**Tabla 4.5. Estadísticos descriptivos de las muestras por grupos de edad obtenidos del parámetro R (radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras**

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

## RESULTADOS



**Figura 4.8. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal (R) (expresada en micras), obtenidos de los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad.**

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Shapiro-Will, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test ANOVA de medidas independientes, que es sustituido por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica superior a 0.05, por lo que podemos no rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución del radio de curvatura del menisco (B) es la misma entre las categorías de grupos de edad").

Por otro lado, en el diagrama de cajas se observa una distribución similar para los diferentes grupos de edad, con medianas muy parecidas.

Podemos concluir por tanto que la mediana de los radios de curvatura del menisco lagrimal (R) son estadísticamente iguales entre entre los 7 grupos de edad ( $p = 0.810$ ).



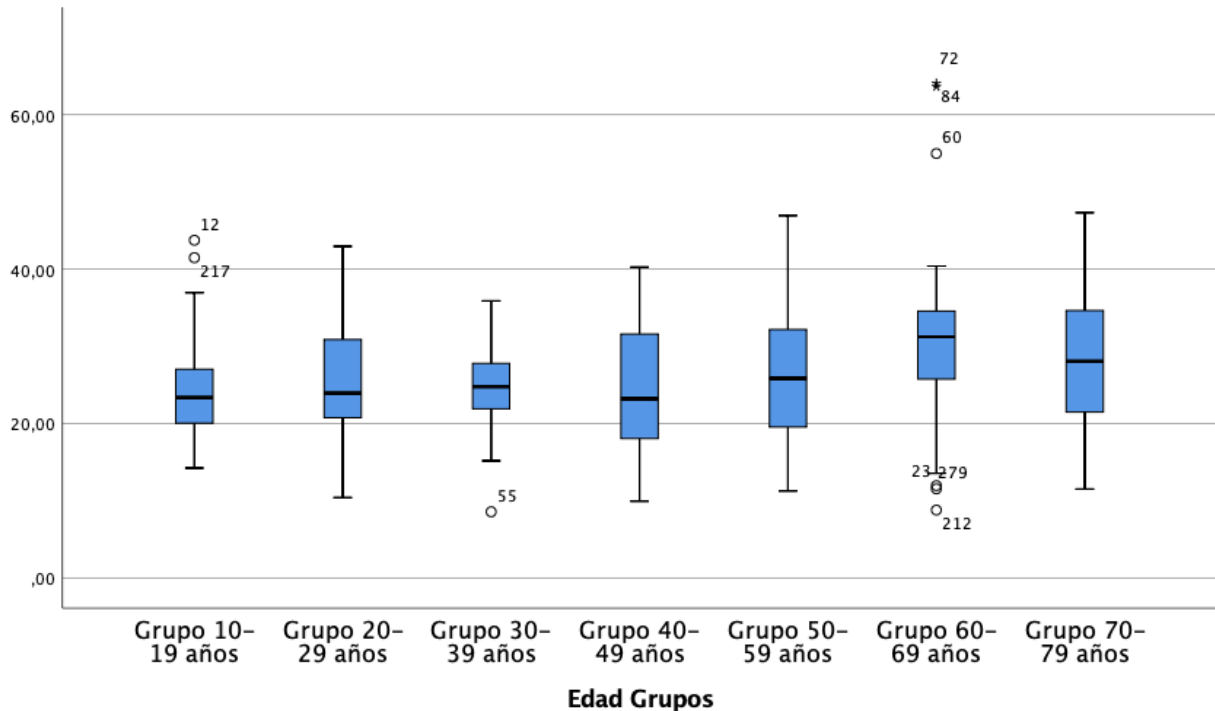
**Evolución con la edad del parámetro  $\vartheta$**

<b>Datos descriptivos ángulo de contacto (<math>\vartheta</math>)</b>					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $^{\circ}$ )	Límites (95% IC, $^{\circ}$ )	Mediana ( $^{\circ}$ )	RIQ ( $^{\circ}$ )	Min - Max ( $^{\circ}$ )
<b>Grupo 1:</b>	24.60 $\pm$ 6.82	24.41 - 26.78	23.38	7.27	14 - 44
<b>Grupo 2:</b>	25.87 $\pm$ 7.83	23.37 - 28.38	23.94	10.52	10 - 43
<b>Grupo 3:</b>	24.81 $\pm$ 5.69	22.99 - 26.63	24.76	6.42	9 - 36
<b>Grupo 4:</b>	24.55 $\pm$ 7.85	22.04 - 27.06	23.22	13.68	10 - 40
<b>Grupo 5:</b>	26.32 $\pm$ 8.64	23.56 - 29.08	25.84	12.82	11 - 47
<b>Grupo 6:</b>	30.90 $\pm$ 11.53	27.21 - 34.58	31.22	9.20	9 - 64
<b>Grupo 7:</b>	27.99 $\pm$ 8.87	25.16 - 30.83	28.07	13.40	12 - 47
<b>Total Grupos:</b>	26.43 $\pm$ 8.54	25.43 - 27.44	25.39	11.39	9 - 64

**Tabla 4.6. Estadísticos descriptivos de las muestras por grupos de edad obtenidos del parámetro  $\vartheta$  (ángulo de contacto del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $^{\circ}$ : grados.**

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

## RESULTADOS



**Figura 4.9.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del ángulo de contacto del menisco lagrimal ( $\theta$ ) (expresado en grados), obtenidos de los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad.

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Shapiro-Will, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test ANOVA de medidas independientes, que es sustituido por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica inferior a 0.05, por lo que podemos rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución del Ángulo de contacto ( $\theta$ ) es la misma entre los grupos de edad").

Para averiguar cuales son los grupos que presentan diferencias realizamos un post-hoc aplicando el análisis por pares con corrección de Bonferroni, que tan sólo muestra significancia en la mediana entre dos de los grupos de edad. Por un lado entre el grupo de 10-19 años frente al grupo de 60-69 años y por otro entre el grupo de 40-49 años también frente al grupo de 60-69 años.

Por otro lado, en el diagrama de cajas se observa una distribución aproximadamente similar para los diferentes grupos de edad.

## RESULTADOS

Podemos afirmar por tanto que la mediana del ángulo de contacto ( $\vartheta$ ) son estadísticamente diferentes en al menos 2 de los grupos de edad  $H(6) = 15.788$ ,  $p = 0.015$ .

El análisis post-hoc revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de 10-19 años y el de 60-69 años ( $p = 0.022$ ), y entre el grupo de 40-49 años frente al de 60-69 años ( $p = 0.043$ ), pero no en otras comparaciones.

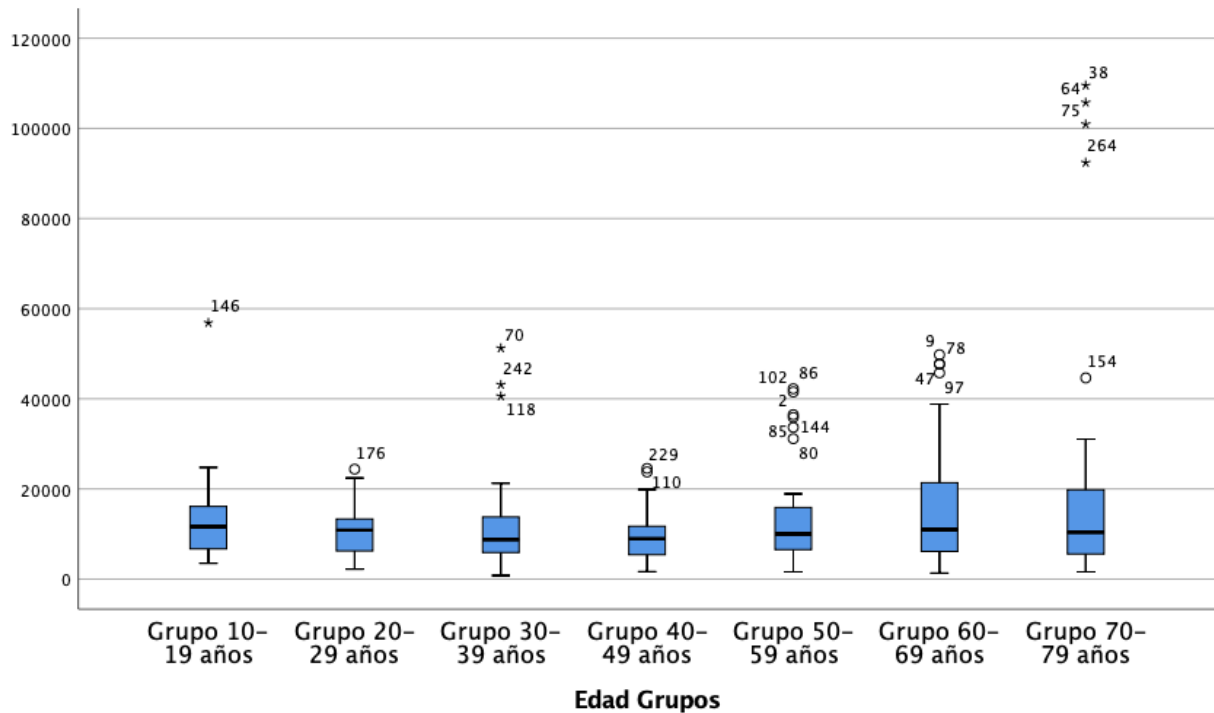
### Evolución con la edad del parámetro Área LIMA

<b>Datos descriptivos área (Área LIMA)</b>						
	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}^2$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}^2$ )	Mediana ( $\mu\text{m}^2$ )	RIQ ( $\mu\text{m}^2$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}^2$ )	
<b>Grupo 1:</b>	12961.25 $\pm$ 9215.91	10013.86 - 15908.64	11621.00	9852	3491 - 56863	
<b>Grupo 2:</b>	10693.78 $\pm$ 5300.43	8998.62 - 12388.93	10859.50	7193	2214 - 24386	
<b>Grupo 3:</b>	12035.03 $\pm$ 10865.56	8560.05 - 15510.00	8757.50	8159	802 - 51240	
<b>Grupo 4:</b>	10071.10 $\pm$ 6065.56	8131.24 - 12019.96	8979.50	6458	1648 - 24560	
<b>Grupo 5:</b>	13632.23 $\pm$ 10949.65	10130.36 - 17134.09	10035.50	9556	1598 - 42240	
<b>Grupo 6:</b>	16303.65 $\pm$ 13401.98	12017.49 - 20589.81	11002.50	15684	1329 - 49779	
<b>Grupo 7:</b>	21364.58 $\pm$ 28839.86	12141.14 - 30588.01	10368.00	15066	1613 - 109520	
<b>Total Grupos:</b>	13865.94 $\pm$ 14443.10	12166.85 - 15565.04	10125.50	10307	802 - 109520	

**Tabla 4.7. Estadísticos descriptivos de las muestras por grupos de edad obtenidos del parámetro área LIMA (área de la sección transversal del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}^2$ : micras cuadradas.**

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

## RESULTADOS



**Figura 4.10. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del área LIMA (expresada en micras cuadradas), obtenidos de los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad.**

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Shapiro-Will, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test ANOVA de medidas independientes, que es sustituido por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica superior a 0.05, por lo que podemos no rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución del área LIMA es la misma entre las categorías de grupos de edad").

Por otro lado, en este caso en el diagrama de cajas se observa una distribución aproximadamente similar para los diferentes grupos de edad, y con medianas parecidas.

Podemos concluir por tanto que la mediana del área LIMA del menisco lagrimal son estadísticamente iguales entre entre los 7 grupos de edad ( $p = 0.429$ ).

## RESULTADOS

### Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función de la edad

Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función de la edad					
	Altura (A) μm	Profundidad (B) μm	Radio de curvatura (R) μm	Ángulo de contacto (ϑ)°	Área LIMA μm <sup>2</sup>
Grupo 1: Media ± DE					
Grupo 2: Media ± DE					
Grupo 3: Media ± DE					
Grupo 4: Media ± DE					
Grupo 5: Media ± DE					
Grupo 6: Media ± DE					
Grupo 7: Media ± DE					
<b>ANOVA</b>					
Grupo 1: Mediana (RIQ)	223.50 (93)	157.50 (70)	533.57 (304)	23.38 ( 7.27)	11621.00 (9852)
Grupo 2: Mediana (RIQ)	220.00 (90)	146.50 (66)	482.31 (230)	23.94 (10.52)	10859.50 (7193)
Grupo 3: Mediana (RIQ)	193.00 (109)	138.00 (60)	492.73 (312)	24.76 (6.42)	8757.50 (8159)
Grupo 4: Mediana (RIQ)	219.50 (125)	130.50 (73)	530.46 (282)	23.22 (13.68)	8979.50 (6458)
Grupo 5: Mediana (RIQ)	230.00 (121)	149.00 (66)	536.29 (356)	25.84 (12.82)	10035.50 (9556)
Grupo 6: Mediana (RIQ)	243.50 (151)	158.50 (93)	484.83 (248)	31.22 (9.20)	11002.50 (15684)
Grupo 7: Mediana (RIQ)	211.00 (178)	150.50 (105)	512.93 (342)	28.07 (13.40)	10368.00 (15066)
Kruskal-Wallis	p = 0.484	p = 0.177	p = 0.810	<b>p = 0.015</b>	p = 0.429
Bonferroni				Grupo 6-Grupo 1 Grupo 6-Grupo 4	

**Tabla 4.8. Resumen de resultados obtenidos de los parámetros del menisco en los siete grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función de la edad. DE: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil; μm: micras; °: grados; μm<sup>2</sup>: micras cuadradas. Sobre fondo verde se indican los resultados obtenidos si las muestras presentan normalidad, que en caso contrario se indican sobre el naranja.**

**4.5. Diferencias entre sexos de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA**

Para este objetivo se ha empleado la muestra 4, compuesta por 280 sujetos, divididos en dos grupos en función del sexo, cada uno de los cuales está formado por 140 hombres y 140 mujeres:

<b>Datos demográficos de la Muestra 4 por sexos</b>			
Muestra	Edad (Media $\pm$ DE, años)	Rango de Edad (años)	Total sujetos
<b>Mujeres:</b>	44.19 $\pm$ 19.85	11 - 79	140
<b>Hombres:</b>	44.69 $\pm$ 20.34	10 - 79	140
<b>Total Muestra:</b>	44.44 $\pm$ 20.06	10 - 79	280

**Tabla 4.9. Datos demográficos de la muestra 4 en función del sexo. DE: desviación estándar.**

Sobre estas muestras, en función del sexo, se proceden a analizar por separado los diferentes parámetros obtenidos con el método LIMA: A, B, R,  $\vartheta$  y Área LIMA.

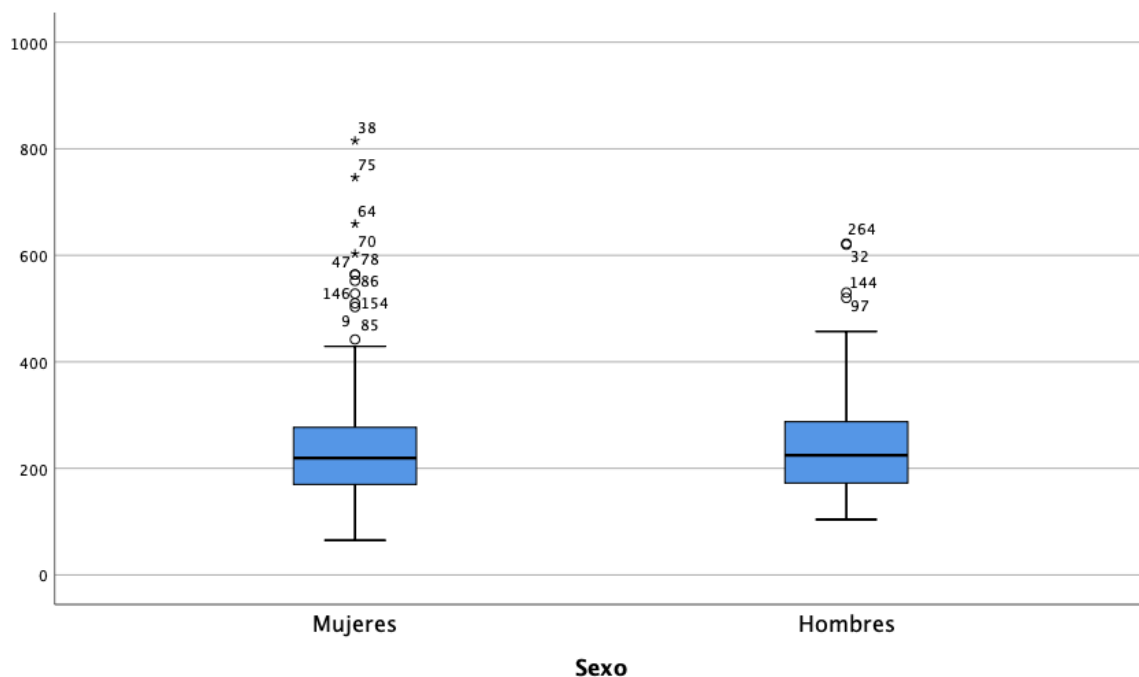
## RESULTADOS

### Diferencias entre sexos del parámetro A

Datos descriptivos altura (A)					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min -Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Mujeres:</b>	248.39 $\pm$ 125.15	227.47 - 269.30	219.50	108	65 - 815
<b>Hombres:</b>	243.04 $\pm$ 94.77	227.21 - 258.88	224.50	116	104 - 622
<b>Total Muestra:</b>	245.71 $\pm$ 110.84	232.67 - 258.75	221.50	116	65 - 815

**Tabla 4.10.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del sexo obtenidos del parámetro A (altura del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

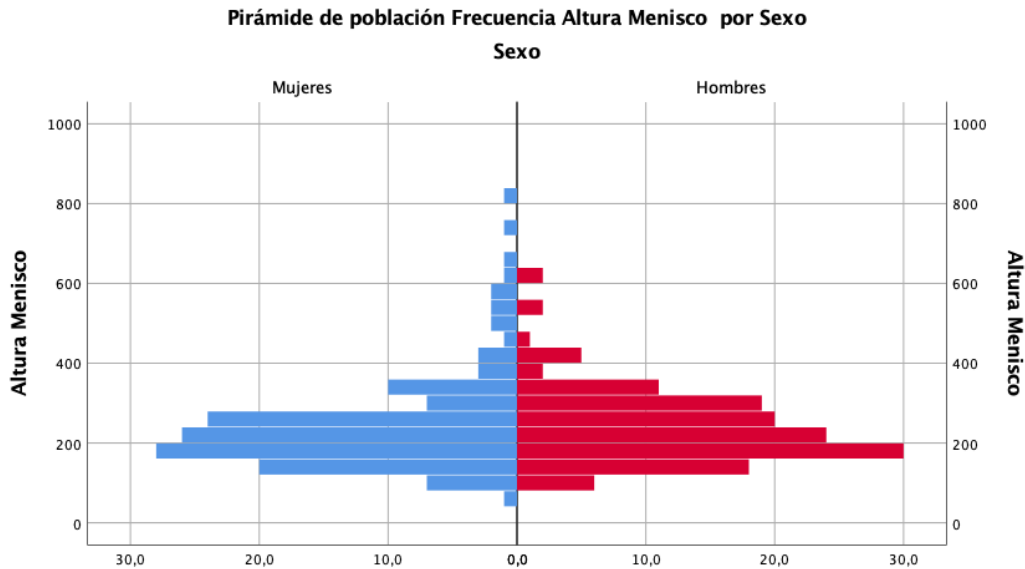
Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:



**Figura 4.11.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida de la altura del menisco (A), expresado en micras, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.

## RESULTADOS

Descartados los valores anómalos se sigue encontrando un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Kolmogorov-Smirnov, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test t-Student, que es sustituido por el U de Mann-Whitney.



**Figura 4.12. Diagrama confrontado que representa las distribuciones de las medidas de la altura del menisco (A), expresado en micras, obtenidas de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.**

En el histograma confrontado puede comprobarse visualmente que ambas distribuciones son asimétricas pero en la misma dirección, y similares en su forma. Se cumple por tanto el supuesto de aplicación del U de Mann-Whitney.

A partir de los resultados de la prueba U de Mann-Whitney, podemos no rechazar  $H_0$ : las medianas en función del sexo de ambos grupos son similares.

Podemos concluir por tanto que las medianas de la altura del menisco (A) en el grupo de las mujeres ( $219.50 \mu\text{m}$ ) y el de los hombres ( $224.50 \mu\text{m}$ ) no son estadísticamente diferentes,  $U = 10176.00$ ,  $z = 0.555$ ,  $p = 0.579$ ,  $r = 0.07$ .



Diferencias entre sexos del parámetro B

Datos descriptivos profundidad (B)					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min -Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Mujeres:</b>	158.67 $\pm$ 82.56	144.88 - 172.47	142.50	79	38 - 576
<b>Hombres:</b>	162.94 $\pm$ 60.46	152.84 - 173.05	154.50	68	61 - 492
<b>Total Muestra:</b>	160.81 $\pm$ 72.26	152.31 - 169.31	149.50	74	38 - 576

Tabla 4.11. Estadísticos descriptivos de las muestras en función del sexo obtenidos del parámetro B (profundidad del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

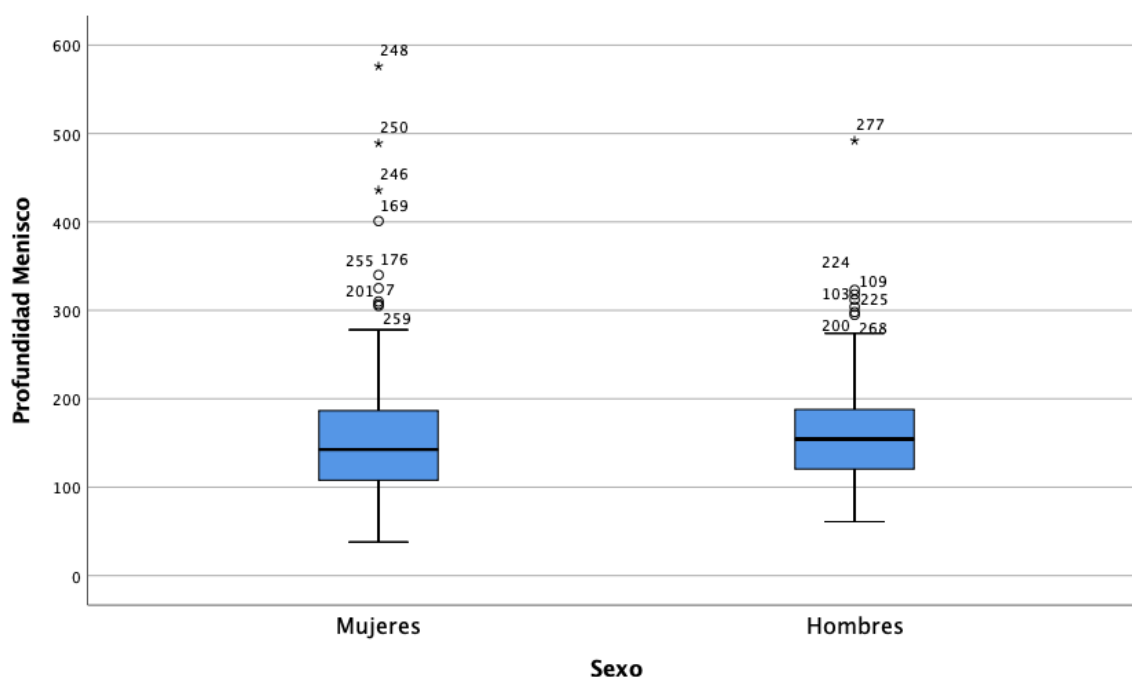
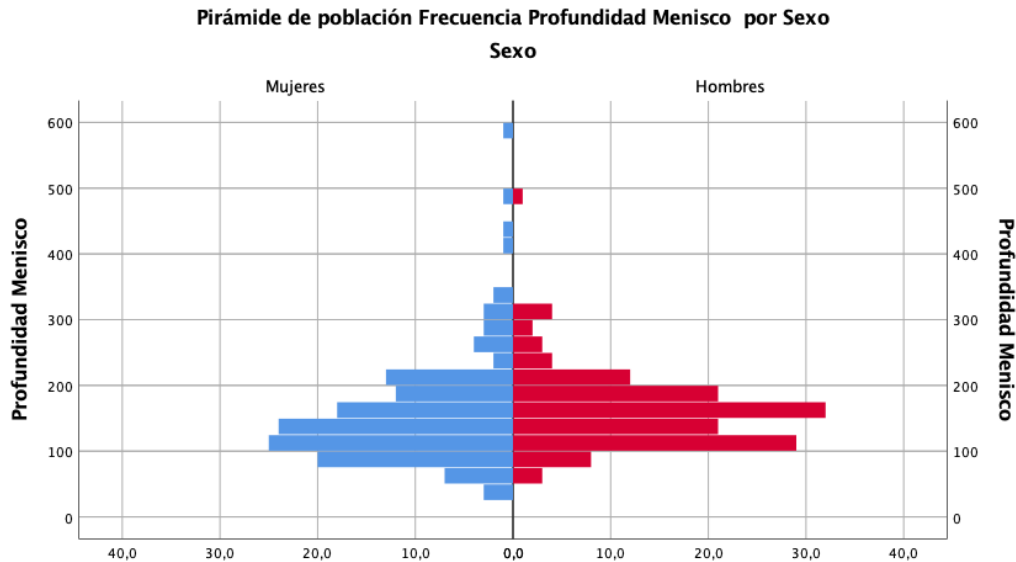


Figura 4.13. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida de la profundidad del menisco (B), expresado en micras, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.

## RESULTADOS

Descartados los valores anómalos se sigue encontrando un  $p$ -valor  $< 0.05$  en la prueba de Kolmogorov-Smirnov, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test  $t$ -Student, que es sustituido por el  $U$  de Mann-Whitney.



**Figura 4.14. Diagrama confrontado que representa las distribuciones de las medidas de la profundidad del menisco (B), expresado en micras, obtenidas de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.**

En el histograma confrontado puede comprobarse visualmente que ambas distribuciones son asimétricas pero en la misma dirección, y similares en su forma. Se cumple por tanto el supuesto de aplicación del  $U$  de Mann-Whitney.

A partir de los resultados de la prueba  $U$  de Mann-Whitney, podemos no rechazar  $H_0$ : las medianas en función del sexo de ambos grupos son similares.

Podemos concluir por tanto que las medianas de la profundidad del menisco (B) en el grupo de las mujeres ( $142.50 \mu\text{m}$ ) y el de los hombres ( $154.50 \mu\text{m}$ ) no son estadísticamente diferentes,  $U = 10992.50$ ,  $z = 1.760$ ,  $p = 0.078$ ,  $r = 0.08$ .

Diferencias entre sexos del parámetro R

Datos descriptivos radio de curvatura (R)					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min-Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>Mujeres:</b>	571.29 $\pm$ 305.63	520.22 - 622.36	508.32	302	178 - 2283
<b>Hombres:</b>	586.50 $\pm$ 288.30	538.33 - 634.68	498.32	253	218 - 1785
<b>Total Muestra:</b>	578.89 $\pm$ 296.66	544.00 - 613.79	505.15	269	178 - 2283

Tabla 4.12. Estadísticos descriptivos de las muestras en función del sexo obtenidos del parámetro R (radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

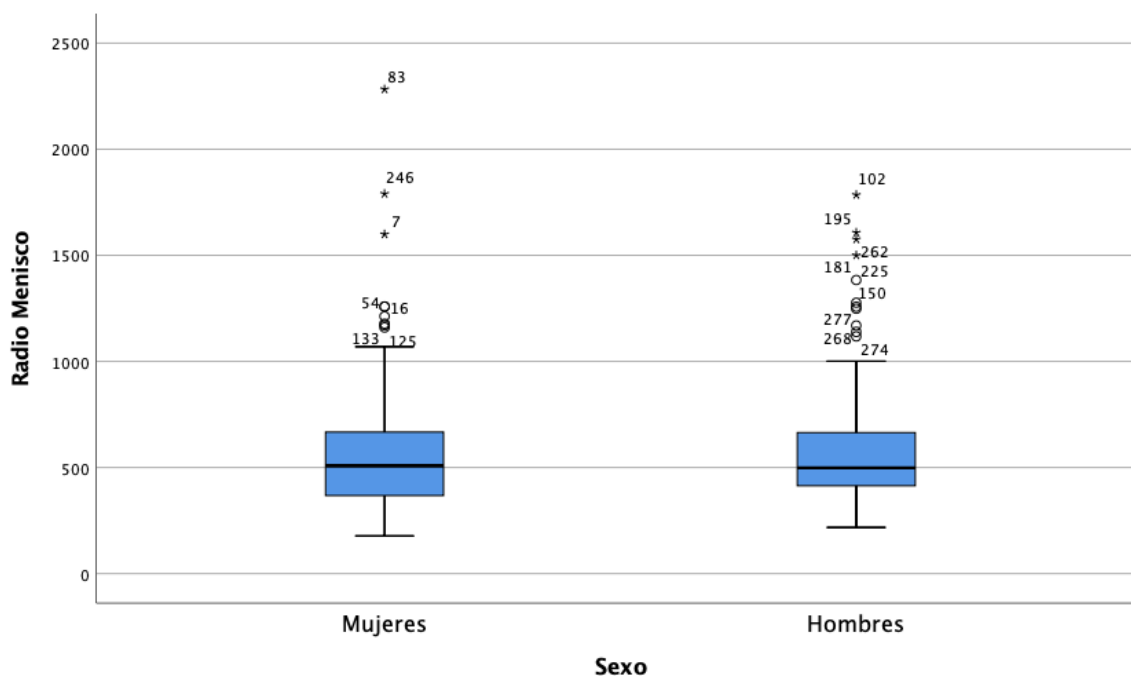
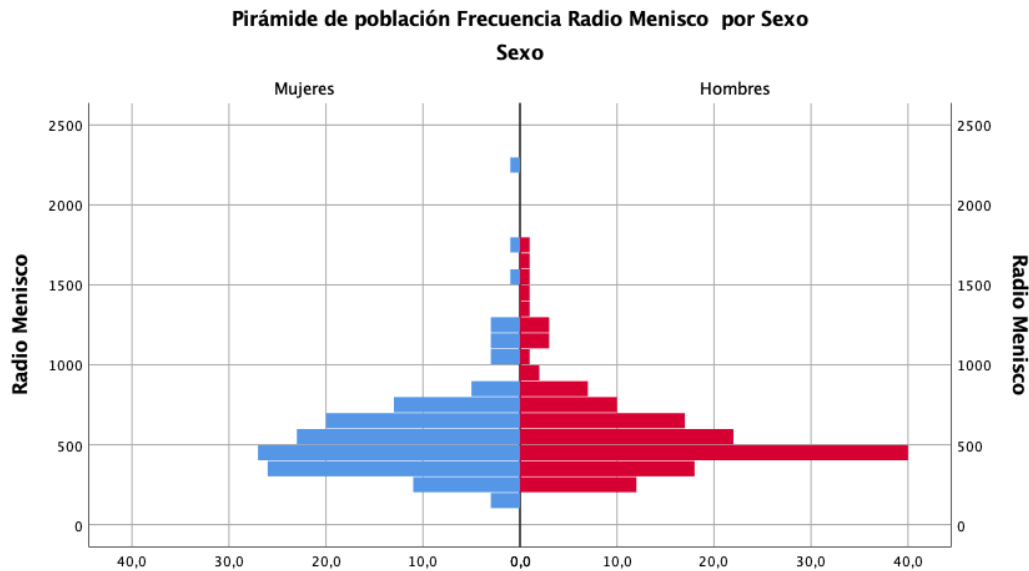


Figura 4.15. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del radio de curvatura del menisco (R), expresado en micras, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.

## RESULTADOS

Descartados los valores anómalos se sigue encontrando un  $p$ -valor  $< 0.05$  en la prueba de Kolmogorov-Smirnov, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test t-Student, que es sustituido por el U de Mann-Whitney.



**Figura 4.16. Diagrama confrontado que representa las distribuciones de las medidas del radio de curvatura del menisco (R), expresado en micras, obtenidas de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.**

En el histograma confrontado puede comprobarse visualmente que ambas distribuciones son asimétricas pero en la misma dirección, y similares en su forma. Se cumple por tanto el supuesto de aplicación del U de Mann-Whitney:

A partir de los resultados de la prueba U de Mann-Whitney, podemos no rechazar  $H_0$ : las medianas en función del sexo de ambos grupos son similares.

Podemos concluir por tanto que las medianas del radio de curvatura del menisco (R) en el grupo de las mujeres ( $508.32 \mu\text{m}$ ) y el de los hombres ( $498.32 \mu\text{m}$ ) no son estadísticamente diferentes,  $U = 10178.00$ ,  $z = 0.558$ ,  $p = 0.577$ ,  $r = 0.07$ .

Diferencias entre sexos del parámetro  $\vartheta$

Datos descriptivos ángulo de contacto ( $\vartheta$ )					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $^{\circ}$ )	Límites (95% IC, $^{\circ}$ )	Mediana ( $^{\circ}$ )	RIQ ( $^{\circ}$ )	Min -Max ( $^{\circ}$ )
<b>Mujeres:</b>	27.08 $\pm$ 9.55	25.49 - 28.68	25.88	12.53	10 - 64
<b>Hombres:</b>	25.78 $\pm$ 7.36	24.56 - 27.01	24.53	10.73	9 - 43
<b>Total Muestra:</b>	26.43 $\pm$ 8.54	25.43 - 27.44	25.39	11.39	9 - 64

Tabla 4.13. Estadísticos descriptivos de las muestras en función del sexo obtenidos del parámetro  $\vartheta$  (ángulo de contacto del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $^{\circ}$ : grados.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

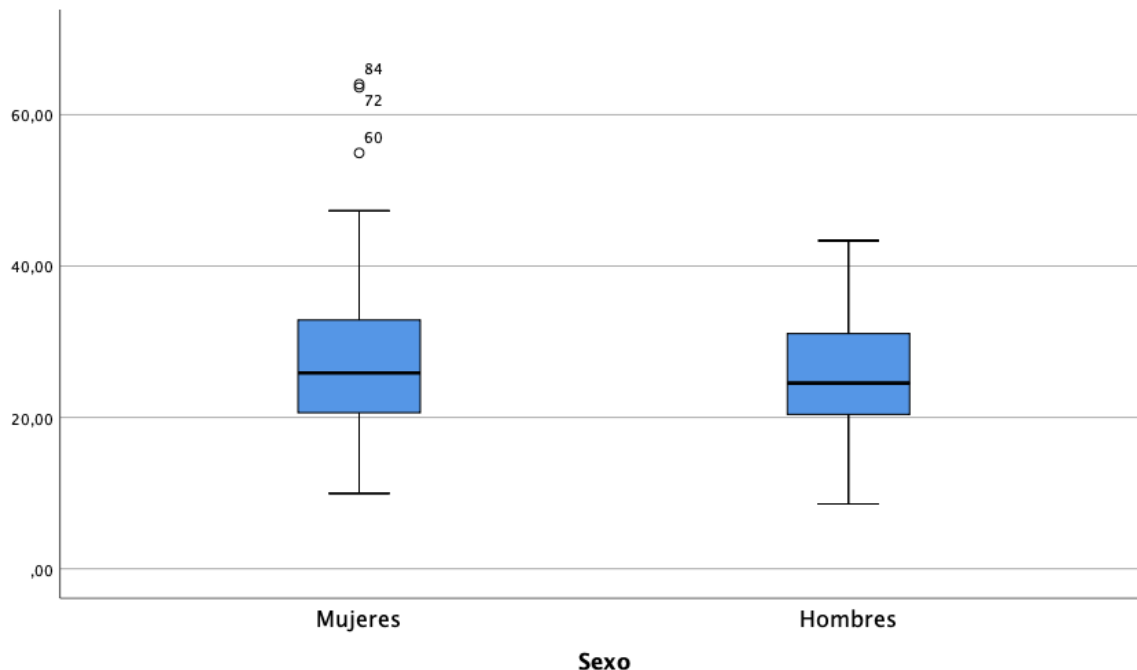
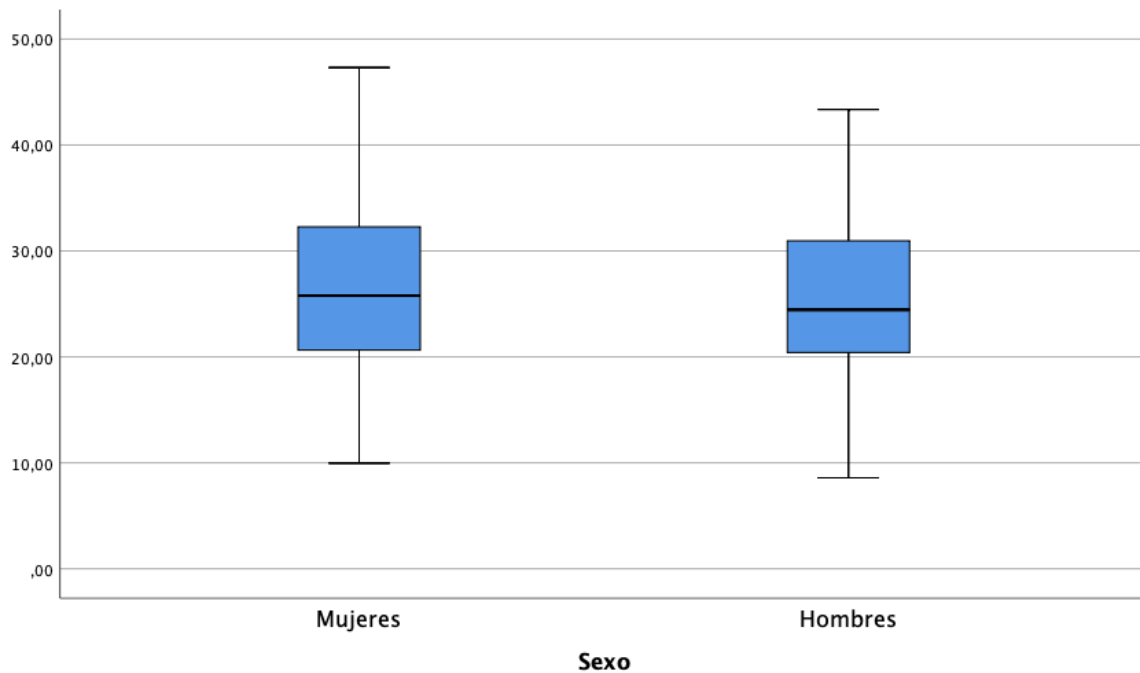


Figura 4.17. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del ángulo de contacto del menisco ( $\vartheta$ ), expresado en grados, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.

## RESULTADOS

Se procede a eliminar los 3 casos anómalos detectados en el grupo de mujeres para poder seguir analizando si se puede aplicar la t-Student, obteniéndose el siguiente resultado.



**Figura 4.18. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del ángulo de contacto del menisco ( $\vartheta$ ), expresado en grados, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo, descontando los tres casos anómalos.**

De esta forma, no se detectan anómalos y se obtiene una significancia mayor a 0.05 en ambos grupos, por lo que podemos no rechazar la hipótesis nula de normalidad para estas muestras.

Para analizar el supuesto de que varianzas entre las muestras sean iguales, utilizamos el estadístico de Levene, que presenta una significancia mayor a 0.05 ( $p = 0.295$ ), por lo que podemos asumir igualdad de varianzas entre las muestras, cumpliéndose por tanto todos los supuestos de aplicación de la prueba t-Student.

A partir de los resultados de la prueba t-Student, podemos no rechazar  $H_0$ : las medias en función del sexo de ambos grupos son similares.

Podemos concluir por tanto que las medias del ángulo de contacto del menisco ( $\vartheta$ ) en el grupo de las mujeres ( $26.34 \pm 8.20^\circ$  en la muestra final de 137 sujetos) y el de los hombres ( $25.78 \pm 7.36^\circ$ ) no son estadísticamente diferentes,  $p = 0.551$ ,  $r = 0.09$ .

Diferencias entre sexos del parámetro Área LIMA

Datos descriptivos área (Área LIMA)					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}^2$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}^2$ )	Mediana ( $\mu\text{m}^2$ )	RIQ ( $\mu\text{m}^2$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}^2$ )
<b>Mujeres:</b>	14455.25 $\pm$ 17319.82	11561.07 - 17349.43	9671.50	10376	802 - 109520
<b>Hombres:</b>	13276.74 $\pm$ 10864.23	11461.20 - 15092.07	10967.00	9829	1613 - 92406
<b>Total Muestra:</b>	13865.94 $\pm$ 14443.10	12166.85 - 15565.04	10125.50	10307	802 - 109520

Tabla 4.14. Estadísticos descriptivos de las muestras en función del sexo obtenidos del parámetro área LIMA (área de la sección transversal del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}^2$ : micras cuadradas.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos a través del gráfico de cajas:

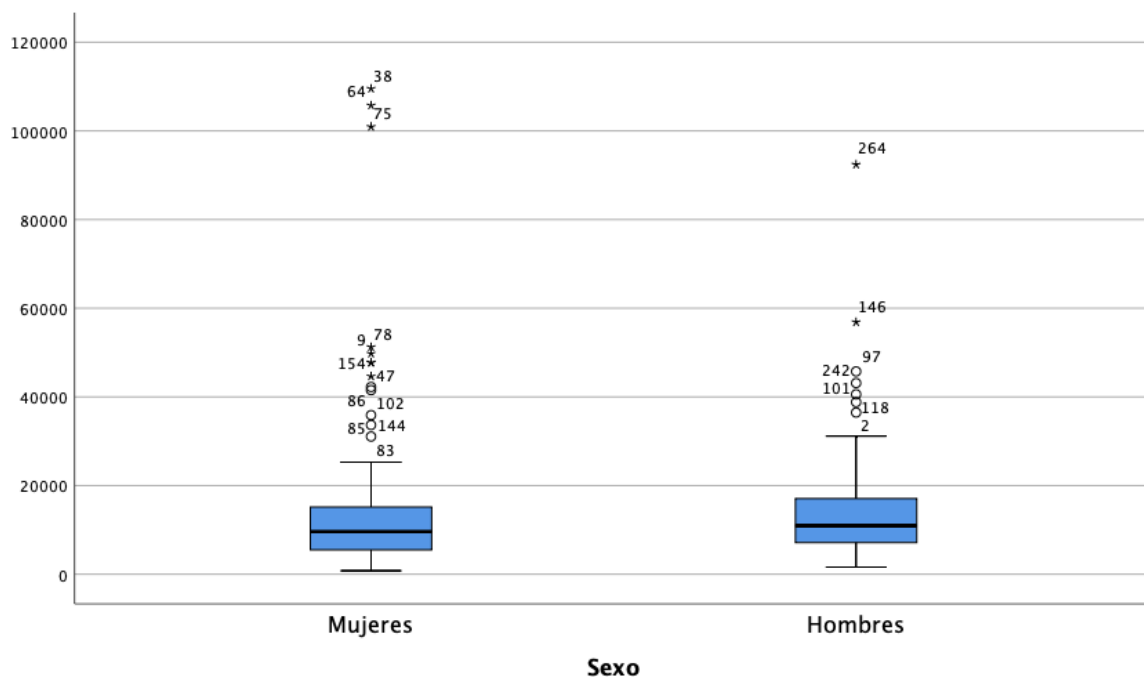
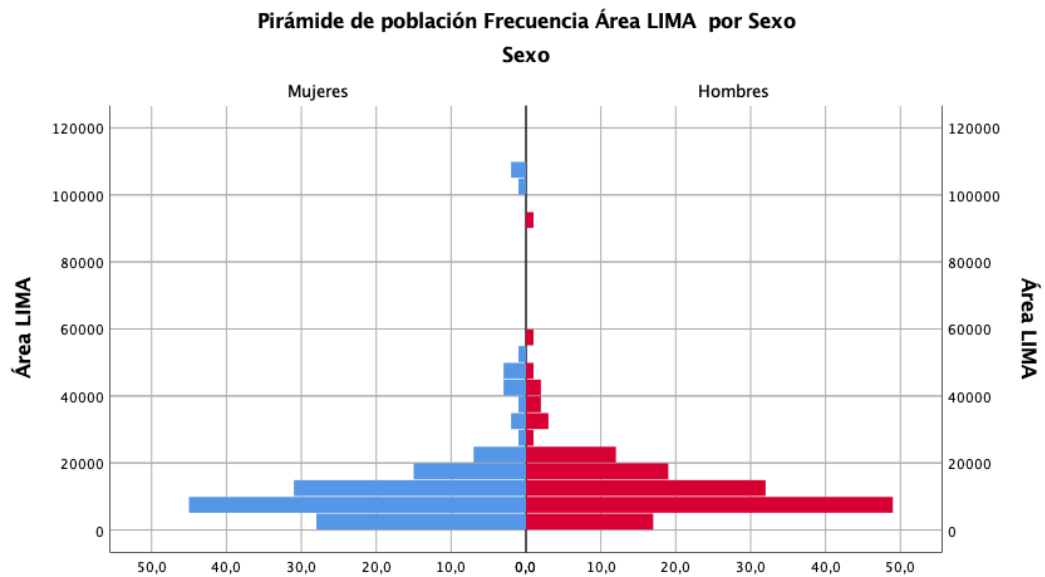


Figura 4.19. Diagrama de cajas que representa los resultados para la medida del área de la sección transversal del menisco lagrimal obtenida mediante el método LIMA (área LIMA), expresado en micras cuadradas, obtenidos de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.

## RESULTADOS

Descartados los valores anómalos siguen encontrándose grupos con un p-valor  $< 0.05$  en la prueba de Kolmogorov-Smirnov, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad de las muestras para la aplicación del test t-Student, que es sustituido por el U de Mann Whitney.



**Figura 4.20. Diagrama confrontado que representa las distribuciones de las medidas del área del menisco (área LIMA), expresado en micras cuadradas, obtenidas de los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo.**

En el histograma confrontado puede comprobarse visualmente que ambas distribuciones son asimétricas pero en la misma dirección, y similares en su forma. Se cumple por tanto el supuesto de aplicación del U de Mann-Whitney:

A partir de los resultados de la prueba U de Mann-Whitney, podemos no rechazar  $H_0$ : las medianas en función del sexo de ambos grupos son similares.

Podemos concluir por tanto que las medianas del área LIMA del menisco en el grupo de las mujeres ( $9671.50 \mu\text{m}^2$ ) y el de los hombres ( $10967.00 \mu\text{m}^2$ ) no son estadísticamente diferentes,  $U = 11059.50$ ,  $z = 1.859$ ,  $p = 0.063$ ,  $r = 0.05$ .



## RESULTADOS

### Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función del sexo

Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función del sexo					
	Altura (A) μm	Profundidad (B) μm	Radio de curvatura (R) μm	Ángulo de contacto (θ) °	Área LIMA μm <sup>2</sup>
Mujeres: Media ± DE				26.34 ± 8.20	
Hombres: Media ± DE				25.78 ± 7.36	
t-Student				p = 0.551	
Mujeres: Mediana (RIQ)	219.50 (108)	142.50 (79)	508.32 (302)		9671.50 (10376)
Hombres: Mediana (RIQ)	224.50 (116)	154.50 (68)	498.32 (253)		10967.00 (9829)
U de Mann-Whitney	p = 0.579	p = 0.078	p = 0.577		p = 0.063

**Tabla 4.15. Resumen de resultados obtenidos de los parámetros del menisco en los dos grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 4 en función del sexo. DE: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil; μm: micras; °: grados; μm<sup>2</sup>: micras cuadradas. Sobre fondo verde se indican los resultados obtenidos si las muestras presentan normalidad, que en caso contrario se indican sobre el naranja.**

**4.6. Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco obtenidos con el método LIMA**

<b>Datos demográficos de la Muestra 5</b>				
Muestra	Edad (Media $\pm$ DE, años)	Rango de Edad (años)	Total sujetos	Hombres-Mujeres (número, porcentaje)
<b>EDE:</b>	61.68 $\pm$ 10.87	37 - 79	19	6 (32%) - 13 (68%)
<b>ADDE:</b>	50.29 $\pm$ 11.46	39 - 72	7	0 (0%) - 7 (100%)
<b>Sanos:</b>	46.85 $\pm$ 9.15	37 - 72	20	12 (60%) - 8 (40%)

**Tabla 4.16. Datos demográficos de la muestra 5. Cada fila representa los datos del grupo de ojos secos evaporativos (EDE), grupo de ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos), que componen la muestra 5. DE: desviación estándar**

El grupo con los criterios establecidos para considerarse eminentemente EDE está compuesto por un total de 19 sujetos, mientras el que cumple los criterios de ADDE por 7 sujetos. Se han encontrado también 3 sujetos que, por presentar criterios compatibles con los dos grupos anteriores, no han sido incluidos por considerarse formas mixtas de DED.

Por otro lado, el grupo inicial de sujetos que cumplían los criterios establecidos para considerarlos como ojos sanos, estaba compuesto por 77 sujetos. Se han escogido para esta muestra tan sólo los que se encuadraban en un rango de edad similar a los dos grupos anteriores. De esta forma, el grupo control está finalmente compuesto por 20 sujetos en total.

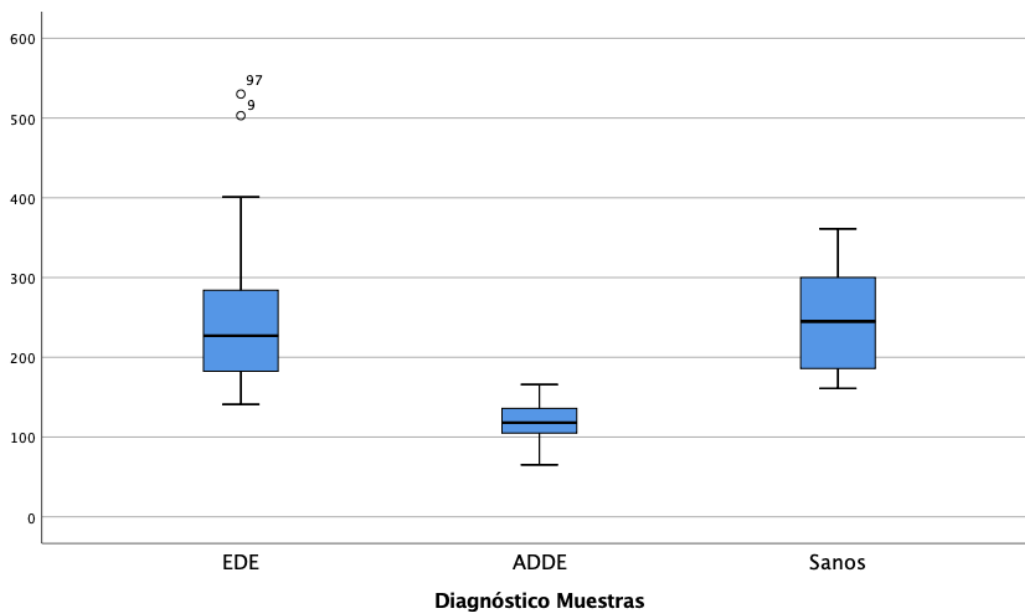
## RESULTADOS

### Comparación del parámetro A entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE

<b>Datos descriptivos altura (A)</b>					
	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>EDE:</b>	257.84 $\pm$ 114.57	202.62 - 313.06	227	112	141 - 530
<b>ADDE:</b>	118.71 $\pm$ 33.73	87.52 - 149.91	118	58	65 - 166
<b>Sanos:</b>	247.80 $\pm$ 63.44	218.11 - 277.49	245	119	161 - 361

**Tabla 4.17.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). obtenidos del parámetro A (altura del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

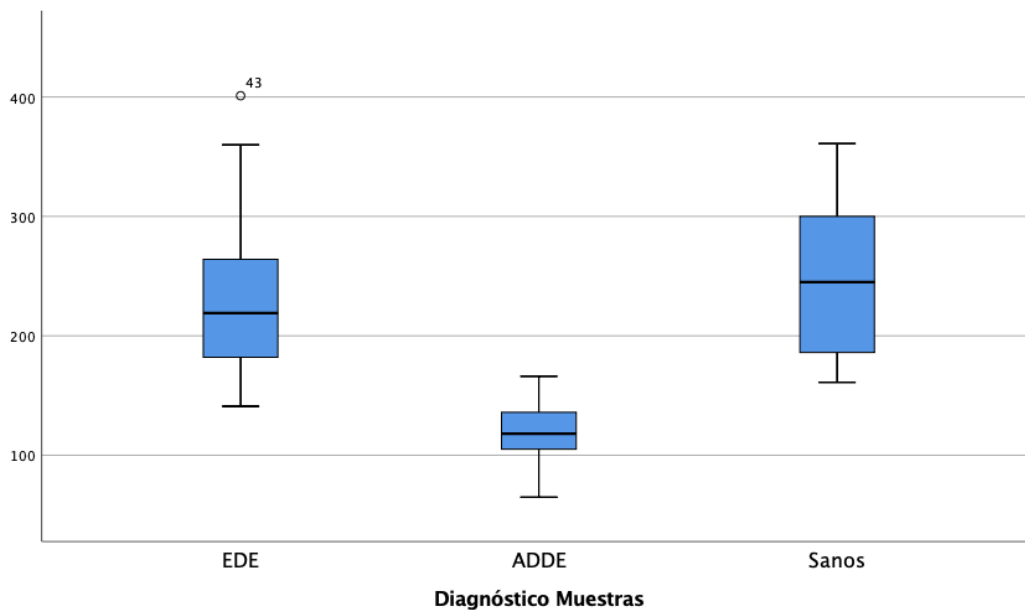
Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos:



**Figura 4.21.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la altura del menisco lagrimal (A), expresada en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos).

## RESULTADOS

Se procede a eliminar los 2 casos anómalos detectados (sujetos 9 y 97) para comprobar si se produce normalidad de todas las muestras.



**Figura 4.22.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la altura del menisco lagrimal (A), expresada en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos), descartando 2 casos anómalos en la muestra de EDE.

Una vez filtrados estos 2 casos, vuelve a aparecer un caso anómalo en el grupo de los EDE, pero al estar muy próximo al límite superior se conserva en el cálculo.

Realizadas pruebas de normalidad se obtiene una significancia mayor a 0.05, por lo que no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad en las muestras.

Se procede a analizar la similitud de varianzas a través del estadístico de Levene, que presentar una significancia mayor a 0.05, por lo que se cumplen todos los supuestos de aplicación del test ANOVA.

La prueba ANOVA muestra una significancia inferior a 0.05, por lo que podemos rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución de A es la misma entre los grupos de edad").

Para averiguar cuales son los grupos que presentan diferencias realizamos un análisis post-hoc de Tukey, en el que se comprueba que sólo se muestra significancia en la media entre dos de los grupos diagnósticos. Por un lado entre el grupo de ADDE frente al de EDE, y por otro entre el grupo de ADDE frente a Sanos.

## RESULTADOS

Podemos concluir por tanto que la media de la altura del menisco (A) es significativamente diferente en al menos dos de los grupos de edad:  $F(2, 41) = 10.656$ ,  $p < 0.001$ .

El análisis post-hoc revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de ADDE y EDE ( $p = 0.001$ ), y entre el grupo de ADDE y sanos ( $p < 0.001$ ), pero no en la comparación de EDE y sanos ( $p = 0.605$ ).

Los estadísticos descriptivos definitivos del parámetro A (altura del menisco), extrayendo los 2 casos anómalos encontrados inicialmente sobre la muestra completa del grupo EDE, que se ha reducido por tanto a 17 sujetos son: media  $227.41 \pm 73.47\mu\text{m}$  (95% IC, 189.64 - 265.19  $\mu\text{m}$ ), mínimo de 141 y máximo de 401  $\mu\text{m}$ .

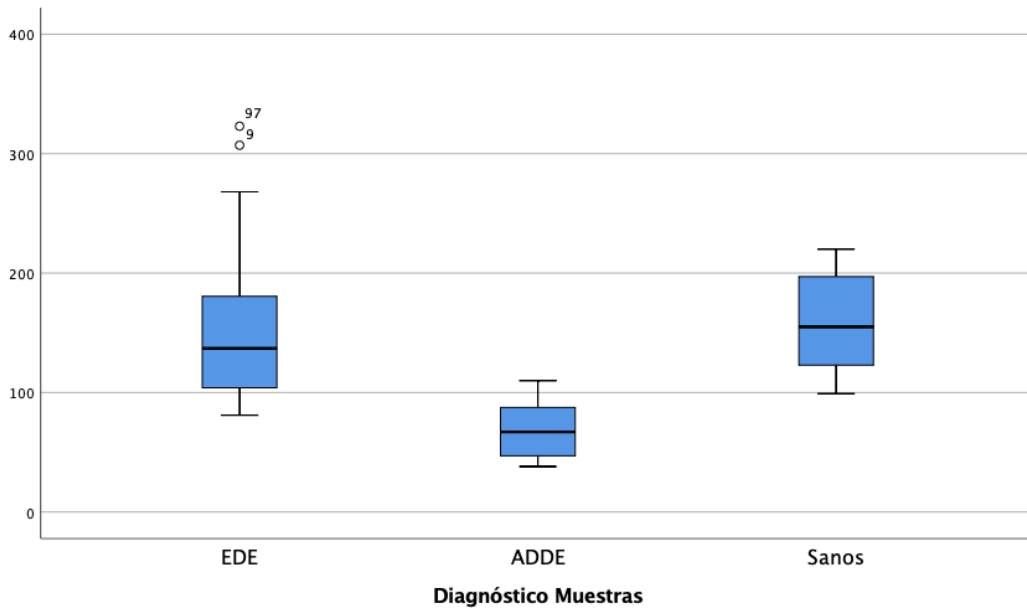
### Comparación del parámetro B entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE

<b>Datos descriptivos profundidad (B)</b>					
	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>EDE:</b>	158.53 $\pm$ 72.51	123.58 - 193.48	137.00	80	81 - 323
<b>ADDE:</b>	69.14 $\pm$ 28.61	42.68 - 95.60	67.00	58	38 - 110
<b>Sanos:</b>	159.35 $\pm$ 38.43	141.36 - 177.34	155.00	74	99 - 220

**Tabla 4.18.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). obtenidos del parámetro B (profundidad del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

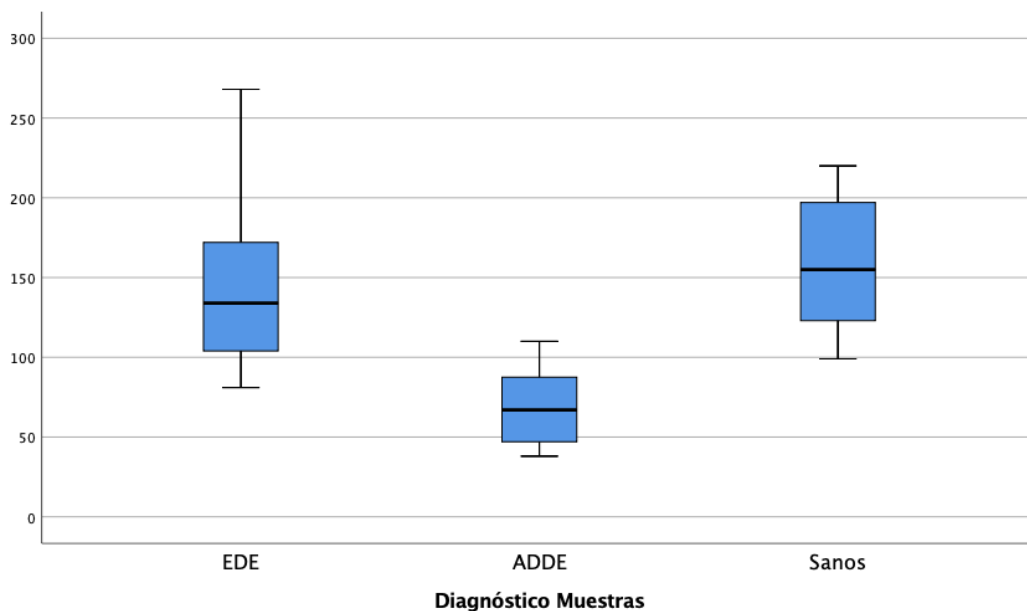
Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos:

## RESULTADOS



**Figura 4.23.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la profundidad del menisco lagrimal (B), expresada en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodéficientes (ADDE), y grupo control (sanos).

Se proceden a eliminar los 2 casos anómalos detectados (sujetos 9 y 97) para comprobar si se produce normalidad de todas las muestras.



**Figura 4.24.** Diagrama de cajas que representa los resultados para la profundidad del menisco lagrimal (B), expresada en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodéficientes (ADDE), y grupo control (sanos), descartando 2 casos anómalos en la muestra de EDE.

## RESULTADOS

Realizadas pruebas de normalidad se obtiene una significancia mayor a 0.05, por lo que no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad en las muestras.

Se procede a analizar la similitud de varianzas a través del estadístico de Levene, que presentar una significancia mayor a 0.05, por lo que se cumplen todos los supuestos de aplicación del test ANOVA.

La prueba ANOVA muestra una significancia inferior a 0.05, por lo que podemos rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución de B es la misma entre los grupos de edad").

Para averiguar cuales son los grupos que presentan diferencias realizamos un análisis post-hoc de Tukey, en el que se comprueba que sólo se muestra significancia en la media entre dos de los grupos diagnósticos. Por un lado entre el grupo de ADDE frente al de EDE, y por otro entre el grupo de ADDE frente a Sanos.

Podemos concluir por tanto que la media de la profundidad del menisco (B) es significativamente diferente entre al menos dos de los grupos,  $F(2, 41) = 11.940$ ,  $p < 0.001$ . Las comparaciones por pares muestran que las diferencias se producen específicamente entre el grupo de EDE y ADDE ( $p = 0.002$ ), y entre el grupo de Sanos y ADDE ( $p < 0.001$ ).

En la comparación entre EDE y sanos no se encontraron diferencias ( $p = 0.359$ ).

Los estadísticos descriptivos definitivos del parámetro B (profundidad del menisco), extrayendo los 2 casos anómalos encontrados inicialmente sobre la muestra completa del grupo EDE, que se ha reducido por tanto a 17 sujetos son: media  $140.12 \pm 49.86$  (95% IC, 114.48 - 165.76  $\mu\text{m}$ ), mínimo de 81 y máximo de 268  $\mu\text{m}$ .

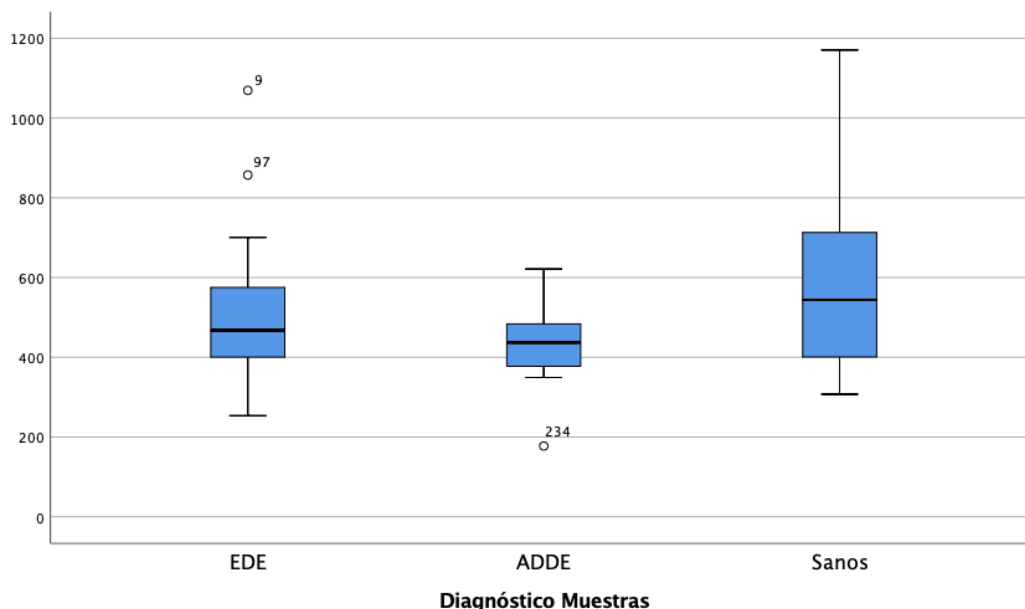
## RESULTADOS

### Comparación del parámetro R entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE

<b>Datos descriptivos radio de curvatura (R)</b>					
Muestra	Media $\pm$ DE ( $\mu\text{m}$ )	Límites (95% IC, $\mu\text{m}$ )	Mediana ( $\mu\text{m}$ )	RIQ ( $\mu\text{m}$ )	Min - Max ( $\mu\text{m}$ )
<b>EDE:</b>	516.15 $\pm$ 196.25	421.56 - 610.75	467.66	186	254 - 1069
<b>ADDE:</b>	422.60 $\pm$ 139.81	293.29 - 551.91	437.13	181	178 - 622
<b>Sanos:</b>	589.94 $\pm$ 234.58	480.15 - 699.73	543.98	339	307 - 1171

**Tabla 4.19.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). obtenidos del parámetro B (profundidad del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $\mu\text{m}$ : micras.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos:

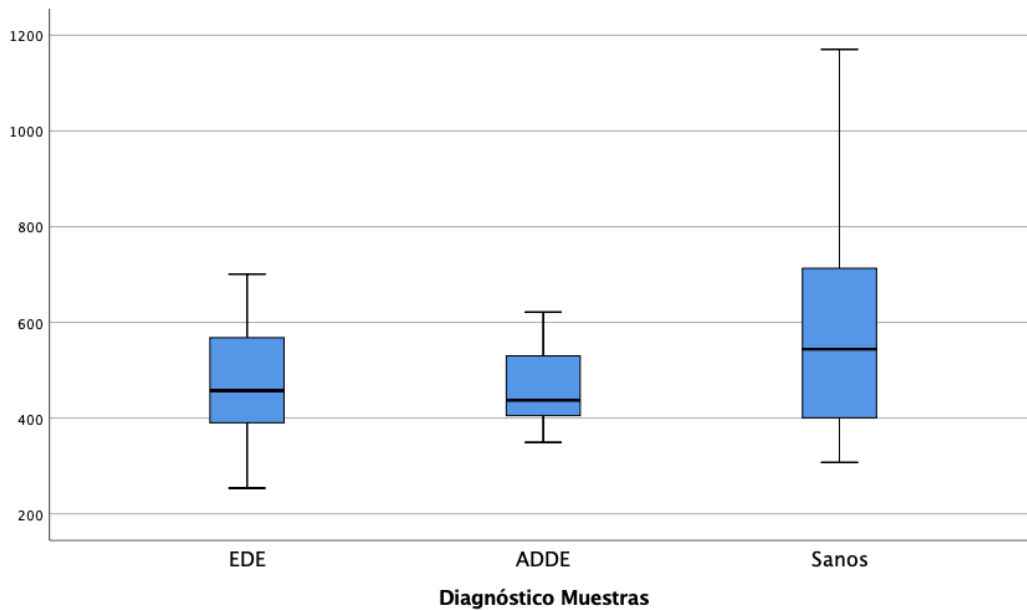


**Figura 4.25.** Diagrama de cajas que representa los resultados para el radio de curvatura del menisco lagrimal (R), expresado en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos).



## RESULTADOS

Se proceden a eliminar los 3 casos anómalos detectados (sujetos 9, 97 en el grupo de EDE, y 234 en el grupo de ADDE) para comprobar si se produce normalidad de todas las muestras.



**Figura 4.26. Diagrama de cajas que representa los resultados para el radio de curvatura del menisco lagrimal (R), expresado en micras, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos), descartando 2 casos anómalos en la muestra de EDE y uno en la de ADDE.**

Realizadas pruebas de normalidad se obtiene una significancia mayor a 0.05, por lo que no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad en las muestras. Para analizar el último supuesto de aplicación del test ANOVA en el que las varianzas entre las muestras deben ser iguales, utilizamos el estadístico de Levene, que presenta un p-valor menor a 0.05 para la media, siendo por tanto un resultado significativo, por lo que podemos afirmar que no se cumple este supuesto. Al sustituir este test de hipótesis por la prueba robusta de igualdad de medias de Welch, la significancia es mayor a 0.05, por lo que no podemos rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La media del radio de curvatura es la misma entre las categorías de grupos diagnósticos").

Una vez calculados los estadísticos descriptivos definitivos, teniendo en cuenta el filtrado de los casos anómalos, podemos concluir por tanto que la media del radio de curvatura (R) del menisco lagrimal son estadísticamente iguales entre entre los 3 grupos diagnósticos ( $p = 0.126$ ), en el grupo de EDE:  $463.57 \pm 118.38 \mu\text{m}$ , en el de ADDE:  $463.44 \pm 97.19 \mu\text{m}$ , y en el de Sanos  $589.94 \pm 234.58 \mu\text{m}$ .

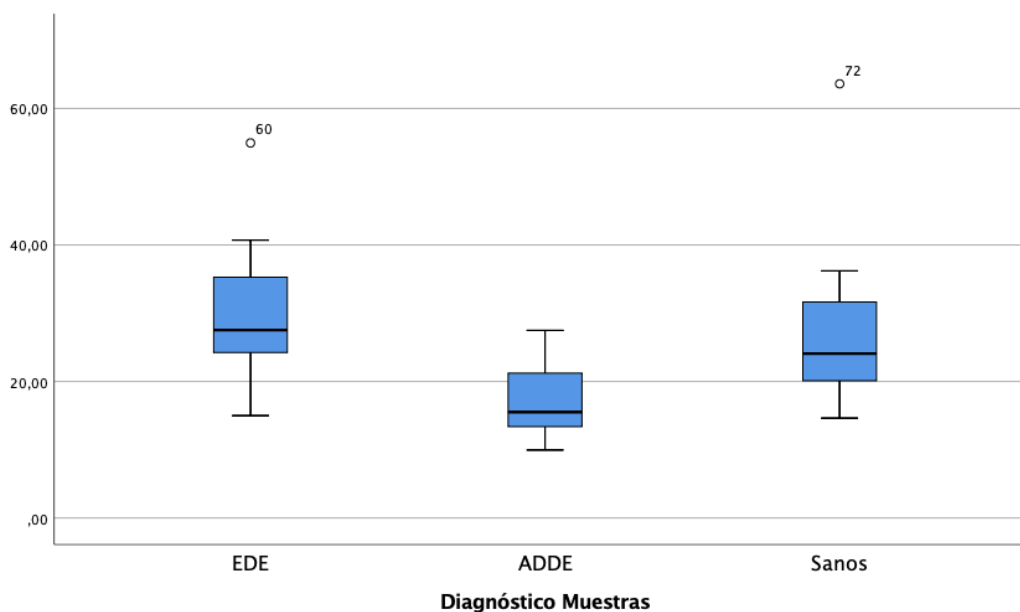
## RESULTADOS

### Comparación del parámetro $\vartheta$ entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE

<b>Datos descriptivos ángulo de contacto (<math>\vartheta</math>)</b>					
	Media $\pm$ DE ( $^{\circ}$ )	Límites (95% IC, $^{\circ}$ )	Mediana ( $^{\circ}$ )	RIQ ( $^{\circ}$ )	Min - Max ( $^{\circ}$ )
<b>EDE:</b>	29.63 $\pm$ 9.03	25.28 - 33.98	27.53	11.67	15 - 55
<b>ADDE:</b>	17.45 $\pm$ 6.20	11.71 - 23.18	15.51	10.07	10 - 27
<b>Sanos:</b>	26.85 $\pm$ 10.84	21.77 - 31.92	24.07	12.09	15 - 64

**Tabla 4.20.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). obtenidos del parámetro  $\vartheta$  (ángulo de contacto del menisco lagrimal). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $^{\circ}$ : grados.

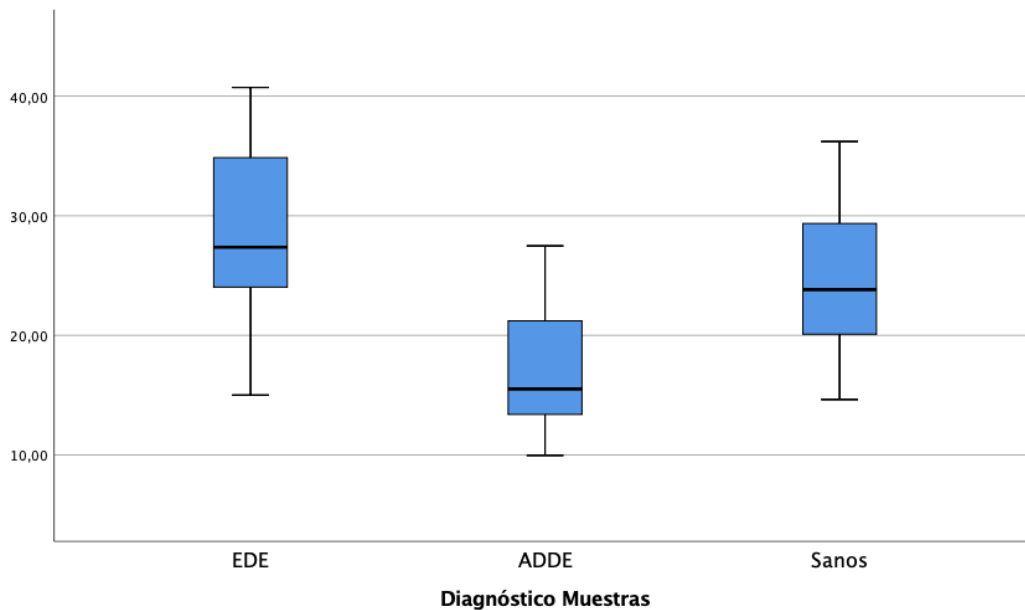
Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos:



**Figura 4.27.** Diagrama de cajas que representa los resultados para el ángulo de contacto del menisco lagrimal ( $\vartheta$ ), expresado en grados, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos).

## RESULTADOS

Se proceden a eliminar los 2 casos anómalos detectados (sujeto 60 en el grupo de EDE, y 72 en el grupo de sanos) para comprobar si se produce normalidad de todas las muestras.



**Figura 4.28.** Diagrama de cajas que representa los resultados para el ángulo de contacto del menisco lagrimal ( $\theta$ ), expresado en grados, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos), descartando un caso anómalo en la muestra de EDE y otro en la de sanos.

Realizadas pruebas de normalidad se obtiene una significancia mayor a 0.05, por lo que no podemos rechazar la hipótesis nula de normalidad en las muestras.

Se procede a analizar la similitud de varianzas a través del estadístico de Levene, que presentar una significancia mayor a 0.05, por lo que se cumplen todos los supuestos de aplicación del test ANOVA.

La prueba ANOVA muestra una significancia inferior a 0.05, por lo que podemos rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La media del ángulo de contacto es la misma entre los grupos diagnósticos"). Para averiguar cuales son los grupos que presentan diferencias realizamos un análisis post-hoc de Tukey, en el que se comprueba que sólo se muestra significancia en la media entre dos de los grupos diagnósticos. Por un lado entre el grupo de ADDE frente al de EDE, y por otro entre el grupo de ADDE frente a Sanos.

## RESULTADOS

Podemos concluir por tanto que la media del ángulo de contacto ( $\vartheta$ ) son estadísticamente significativa diferentes en al menos uno de los grupos diagnósticos:  $F(2, 41) = 6.554, p = 0.003$ .

El análisis post-hoc revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de ADDE y EDE ( $p = 0.002$ ), y entre el grupo de ADDE y Sanos ( $p = 0.040$ ), pero no en la comparación de EDE y Sanos ( $p = 0.299$ ).

Los estadísticos descriptivos definitivos de  $\vartheta$ , teniendo en cuenta el filtrado de los casos anómalos serían, en el grupo de EDE ( $n = 18$ ): media  $28.22 \pm 6.82^\circ$  (95% IC,  $24.83 - 31.61^\circ$ ) entre  $15.01$  y  $40.72^\circ$ , y en el grupo de sanos ( $n = 19$ ): media  $24.91 \pm 6.71^\circ$  (95% IC,  $21.68 - 28.14^\circ$ ) entre  $14.63$  y  $36.20^\circ$ .

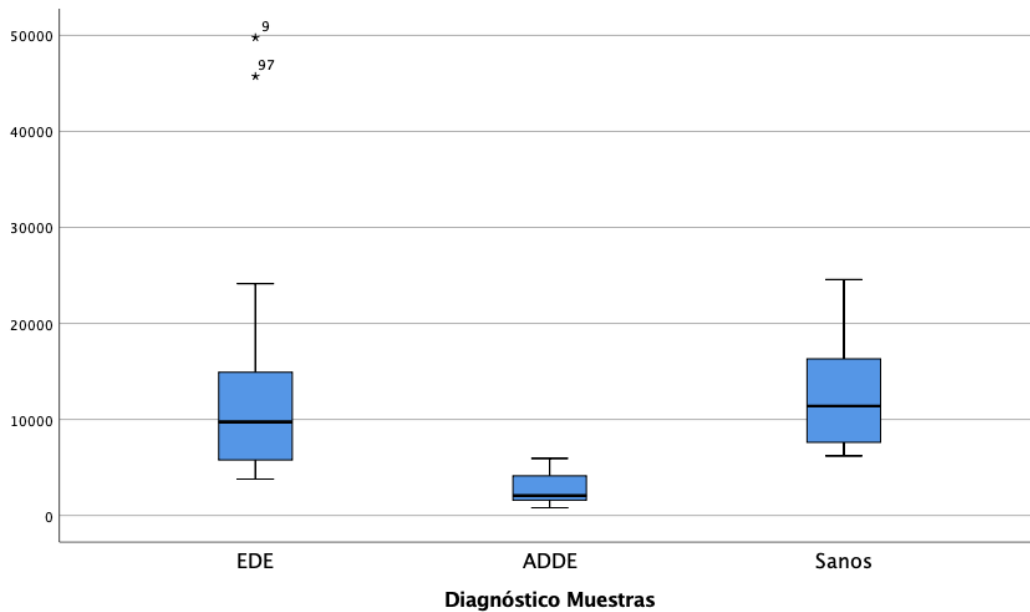
### Comparación del parámetro Área LIMA entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE

<b>Datos descriptivos área (Área LIMA)</b>					
	Media $\pm$ DE ( $m\mu^2$ )	Límites (95% IC, $m\mu^2$ )	Mediana ( $m\mu^2$ )	RIQ ( $m\mu^2$ )	Min - Max ( $m\mu^2$ )
<b>EDE:</b>	13905.81 $\pm$ 13258.11	7515.80 - 20296.02	9741.42	9561	3792 - 49779
<b>ADDE:</b>	2891.30 $\pm$ 1974.42	1065.26 - 4717.43	2059.09	3670	802 - 5946
<b>Sanos:</b>	12355.33 $\pm$ 5326.66	9862.37 - 14848.28	11392.67	8952	6197 - 24560

**Tabla 4.21.** Estadísticos descriptivos de las muestras en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). obtenidos del parámetro área LIMA (área de la sección transversa del menisco lagrimal medida con el método LIMA). DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; RIQ: rango intercuartil; Min: mínimo; Max: máximo;  $m\mu^2$ : micras cuadradas.

Se analiza en primer lugar la no existencia de valores anómalos:

## RESULTADOS



**Figura 4.29. Diagrama de cajas que representa los resultados para el área de la sección transversal del menisco lagrimal medida con el método LIMA (área LIMA), expresada en micras cuadradas, obtenidos de los tres grupos diagnóstico que componen la muestra 5: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos).**

Se proceden a eliminar los 2 casos anómalos detectados (sujetos 9 y 97 del grupo de EDE) para comprobar si se produce normalidad de todas las muestras. Se obtiene una significancia menor a 0.05 para la prueba de Shapiro-Shapiro-Wilk en uno de los grupos ( $p = 0.024$  en grupo de EDE), por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula de normalidad en las muestras, necesaria para la aplicación del test ANOVA, y lo sustituimos por el de Kruskal-Wallis.

El resumen de prueba de hipótesis muestra una significancia asintótica inferior a 0.05, por lo que no podemos aceptar la hipótesis nula ( $H_0$ : "La distribución del Área LIMA es la misma entre los grupos diagnósticos").

Para averiguar cuales son los grupos que presentan diferencias realizamos un post-hoc aplicando el análisis por pares con corrección de Bonferroni, que tan sólo muestra significancia en la mediana entre dos de los grupos diagnósticos. Por un lado entre el grupo de ADDE frente al de EDE, y por otro entre el grupo de ADDE frente a Sanos.

Por otro lado, en el diagrama de cajas se observa una distribución similar para el grupo de EDE y Sanos, pero más acortada en el grupo de ADDE, por lo que no pueden considerarse todas similares.

## RESULTADOS

Podemos afirmar por tanto que la distribución del área LIMA son estadísticamente diferentes en al menos 2 de los grupos de edad:  $H(2) = 16.076$ ,  $p < 0.001$ .

El análisis post-hoc revela diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de ADDE y EDE ( $p = 0.004$ ), y entre el grupo de ADDE y sanos ( $p < 0.001$ ), pero no en la comparación de EDE y sanos ( $p = 0.877$ ).

### Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función del grupo diagnóstico

Resumen de resultados de los parámetros del menisco en función del grupo diagnóstico					
	Altura (A) $\mu\text{m}$	Profundidad (B) $\mu\text{m}$	Radio de curvatura (R) $\mu\text{m}$	Ángulo de contacto ( $\theta$ ) °	Área LIMA $\mu\text{m}^2$
EDE: Media $\pm$ DE	227.41 $\pm$ 73.47	140.12 $\pm$ 49.86	463.57 $\pm$ 118.38	28.22 $\pm$ 6.82	
ADDE: Media $\pm$ DE	118.71 $\pm$ 33.73	69.14 $\pm$ 28.61	463.44 $\pm$ 97.19	17.45 $\pm$ 6.20	
Sanos: Media $\pm$ DE	247.80 $\pm$ 63.44	159.35 $\pm$ 38.43	589.94 $\pm$ 234.58	24.91 $\pm$ 6.71	
ANOVA	$p < 0.001$	$p < 0.001$		$p = 0.003$	
Tukey	ADDE-EDE ADDE-Sanos	ADDE-EDE ADDE-Sanos		ADDE-EDE ADDE-Sanos	
Welch			$p = 0.126$		
EDE: Mediana (RIQ)					9741.42 (9561)
ADDE: Mediana (RIQ)					2059.09 (3670)
Sanos: Mediana (RIQ)					11392.67 (8952)
Kruskal-Wallis					$p < 0.001$
Mediana/Distribución					Distribución
Bonferroni					ADDE-EDE ADDE-Sanos

**Tabla 4.22. Resumen de resultados obtenidos de los parámetros del menisco en los tres grupos de sujetos en los que se ha dividido la muestra 5 en función del grupo diagnóstico: ojos secos evaporativos (EDE), ojos secos acuodeficientes (ADDE), y grupo control (sanos). DE: desviación estándar; RIQ: rango intercuartil;  $\mu\text{m}$ : micras; °: grados;  $\mu\text{m}^2$ : micras cuadradas. Sobre fondo verde se indican los resultados obtenidos si las muestras presentan normalidad, que en caso contrario se indican sobre el naranja.**

## **CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN



## 5. DISCUSIÓN

El estudio de la superficie ocular y de la película lagrimal cada vez está más extendida en la práctica clínica. La aparición de síntomas y signos relacionados con el deterioro de la película lagrimal es cada vez más frecuente entre los pacientes que visitan los centros especializados. Esta situación lleva a que el clínico demande, cada vez más, instrumentos o dispositivos que permitan valorar la lágrima de una forma cuantitativa, precisa, segura y, preferiblemente, no invasiva.

Por ello, en esta Tesis Doctoral se describe y se valora una metodología que permite cuantificar de forma rápida y con un dispositivo que, en muchos casos, el clínico ya tiene en su gabinete, diferentes parámetros del menisco lagrimal inferior.

### 5.1. Análisis clínico de resultados y comparación con literatura previa

En este capítulo se procede a analizar la trascendencia de los resultados obtenidos desde un punto de vista clínico, y en los casos en los que haya antecedentes previos, su comparación y la posible justificación de las diferencias. Debido a los diversos objetivos, los numerosos parámetros que han sido analizados, y a la gran cantidad de factores que pueden influir en los resultados obtenidos, en las siguientes secciones (5.2. y 5.3.) se argumentan de manera detallada los posibles orígenes de las diferencias con otros estudios que pueden encontrarse con carácter genérico. En esta sección exclusivamente se discuten por tanto tan sólo factores no relacionados con el protocolo, metodología o instrumentación empleada.

#### 5.1.1. Validez del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal

El Objetivo 1.1. de este trabajo se centra en analizar la validez en la medida del área del menisco lagrimal mediante el método LIMA. Los resultados obtenidos en el presente trabajo no presentan diferencias estadísticamente significativas, independientemente del método de medida utilizado (método LIMA o procesado externo de imagen) y del tamaño del área del menisco lagrimal, infraestimando el área calculada con el método LIMA en el caso de meniscos pequeños ( $p = 0.144$ ), y sobreestimándola en el caso de meniscos grandes ( $p = 0.134$ ). Estas diferencias suponen, desde un punto de vista porcentual, respectivamente un 3.35% y 0.21%, con una

diferencia media calculada para la muestra completa ligeramente superior al 1%, muy por debajo de la diferencia clínica máxima aceptable, que en esta disertación se ha establecido en un 10%.

Al tratarse de un método novedoso, no es posible valorar el nivel de concordancia con algún otro método que se haya propuesto como referente a seguir hasta la fecha.

### **5.1.2. Fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal**

La primera parte del Objetivo 1.2. de este trabajo se ha centrado en analizar la fiabilidad en la medida del área del menisco lagrimal mediante el método LIMA.

Los datos de variación inter-individuos de la presente tesis presentan un CCI de acuerdo absoluto significativo ( $p < 0.05$ ) de 0.983, lo que desde un punto de vista clínico puede considerarse muy fuerte. Este resultado, obtenido de las medidas realizadas por dos observadores diferentes sobre las imágenes tomográficas de una muestra de población sin distinción de su diagnóstico, demuestra la fiabilidad del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal, incluso levemente superior a otros estudios como el realizado por Fukuda et al. de 2013, donde se observó una correlación entre observadores superior al 95% a través de un protocolo de medidas e instrumentación diferentes.

Sin embargo, este resultado difiere del estudio de Qiu, Gong, Sun, y Jin de 2011, en el que encontraron una variabilidad alta en la variación inter-individuos de TMA. Esta diferencia podría deberse a la acumulación de varios factores, entre los que podemos destacar que, en el estudio de Qiu, Gong, Sun, y Jin de 2011: i) cada uno de los observadores realiza el examen completo de forma individual, ii) se suponen diferencias en el trazado de las medidas sobre la imagen tomográfica de cada individuo, iii) existen diferencias en la zona exacta donde se realiza la tomografía sobre el borde del párpado.

### **5.1.3. Precisión del método LIMA en la medición del área del menisco lagrimal**

La segunda parte del objetivo 1.2. se ha centrado en analizar la precisión en la medida del área del menisco lagrimal mediante el método LIMA.

Los datos de la variabilidad entre las muestras del área del menisco lagrimal inferior medidas a través del método LIMA en un intervalo de 2-3 minutos, sobre una muestra de población sin distinción de su diagnóstico, presentan un CCI de acuerdo absoluto significativo ( $p < 0.05$ ) para una única medida de 0.95, lo que desde un punto de vista clínico puede considerarse también muy fuerte. Este resultado demuestra que la precisión del método LIMA para la medida del área

## DISCUSIÓN

de la sección transversal del menisco lagrimal es muy elevada, coincidente con estudios anteriores que analizando la repetibilidad sobre sujetos sanos en las medidas de TMA encontraron una correlación intraclase superior al 95% (Fukuda et al., 2013).

Aunque hay que tener en cuenta que, en el caso de la validación de la repetibilidad de las medidas del menisco en sujetos con sequedad ocular, tal como han propuesto algunos autores (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), con la resolución de los instrumentos actuales, en los meniscos más pequeños que se presentan en los sujetos acuodeficientes es más difícil identificar su contorno. A pesar de ello, podemos encontrar bibliografía en la que las variaciones de las medidas intra-individuos de TMH, TMA y TMD con FD-OCT RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) fueron pequeñas en cada uno de los cuatro grupos que establecieron en función de la edad, y los resultados del CV fueron bajos, tanto para el grupo control, como el de pacientes con ojo seco (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011).

Los resultados obtenidos en este trabajo, aunque hay que tener en cuenta que tomados en una muestra de población en general, son incluso mejores a trabajos anteriores como el de Tittler et al. en 2011, que calcularon para una muestra de 16 sujetos con DED un CV entre observadores de un 19.5%, para TMA. Calcularon también este CV en dos imágenes sucesivas realizadas de forma rápida, resultando en este caso un valor de 35.4%, por lo que concluyeron que la FD-OCT demostraba una buena repetibilidad entre observadores y entre imágenes para estas medidas en pacientes con DED (Tittler et al., 2011). En la misma línea, otros autores (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) con una SS-OCT en un grupo de pacientes con ojo seco, encontraron una repetibilidad inter-observador e inter-imágenes superior a un 80% para TMA del menisco superior e inferior.

A la vista de los resultados obtenidos de la muestra 1 del objetivo 1.1. y de las muestras 2 y 3 del objetivo 1.2. de este trabajo, se verifica la hipótesis 1 planteada: el método LIMA es un sistema de valoración válido, fiable y preciso en el cálculo del área del menisco lagrimal.

### **5.1.4. Evolución con la edad de los parámetros geométricos del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA**

Para analizar la evolución con la edad en una muestra de la población (muestra 4) de los parámetros geométricos del menisco lagrimal: A, B, y los obtenidos a través del método propuesto: R,  $\vartheta$ , y el área LIMA, en esta sección se procede en primer lugar a comparar los

valores medios obtenidos con el método LIMA (A, B, R, y Área LIMA) con los parámetros ya estudiados previamente (TMH, TMD, TMR y TMA) en la literatura. Posteriormente se analizan las posibles diferencias de cada parámetro entre los grupos de edad y se comparan con los obtenidos en la literatura previa al respecto.

#### 5.1.4.1. Comparación de valores medios y evolución con la edad de la altura del menisco lagrimal

Con respecto a los valores medios obtenidos, en este trabajo el resultado medio para A es  $245.71 \pm 110.84 \mu\text{m}$ , muy similar al obtenido por otros autores para sujetos sanos para TMH y que podemos observar en el Anexo V, en concreto  $256 \pm 57 \mu\text{m}$  (Fukuda et al., 2013) o  $245.84 \pm 67.18 \mu\text{m}$  (Arriola-Villalobos et al., 2015), aunque ambos presentan una desviación estándar menor.

Por otro lado, hay otros trabajos que presentan diferencias evidentes en la media, inferiores de  $196 \pm 23 \mu\text{m}$  (Shen et al., 2009), o superiores de  $400 \pm 170 \mu\text{m}$  (Ibrahim et al., 2010), o con TD-OCT Visante (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*)  $332 \pm 71 \mu\text{m}$  y con FD-OCT Cirrus (*Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA*)  $338 \pm 96 \mu\text{m}$  (Chan, Zhao Tun y Tong, 2015). Estos resultados y su mayor variabilidad, además de por los motivos que posteriormente se desarrollan en esta discusión, podrían justificarse también en parte por la muestra utilizada, que en los casos anteriormente descritos estaba compuesta exclusivamente por sujetos sanos, mientras la muestra 4 está compuesta por una muestra de población en general, incluyendo los casos clasificados como eminentemente ADDE, EDE, así como sus formas mixtas.

En lo referente a la evolución con la edad, los resultados obtenidos demuestran que no hay diferencias estadísticamente significativas en la mediana de A entre los 7 grupos establecidos por cada década de edad entre los 10 y los 79 años ( $p = 0.484$ ). Si bien es preciso también indicar que la gráfica obtenida con los diagramas de cajas muestra una mayor tendencia de valores por encima de la media a partir de la 5ª década, con un creciente número de casos extremos, que podrían explicarse en cierta forma por problemas obstructivos del canal de drenaje lagrimal en los sujetos de más edad, que origina una mayor variabilidad entre los valores tal como podemos observar en la Figura 4.6.

Este resultado coincide con el obtenido por Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder de 2014, en el que no encontraron diferencias significativas en TMH entre un grupo control formado por sujetos asintomáticos menores de 50 años y otro de mayores de 50 años (Tung, Perin, Gumus y

Pfugfelder, 2014). Por el contrario, no coincide con el estudio de Liu Gong Sun y Jin en 2011, que es uno de los escasos estudios que analizan las diferencias entre varios grupos de edad (Anexo V), en el que fueron reclutados 160 sujetos sanos como grupo control (160 ojos; 53 hombres y 107 mujeres), y se agruparon de acuerdo a su edad en: A (0–19 años), B (20–39 años), C (40–59 años), y D (>60 años). En el caso de los sujetos sanos chinos en los que se evaluó TMH, se encontró que estaban relacionados negativamente con la edad (Liu Gong Sun y Jin, 2011), lo que contradice lo hallado en nuestra tesis. Estas diferencias podrían ser explicadas por las diferentes razas estudiadas, además de por las diferentes características de las muestras de sujetos empleadas, ya que como antes ya señalábamos en nuestro caso las muestras incluyen los casos clasificados como eminentemente ADDE, EDE, así como sus formas mixtas.

#### 5.1.4.2. Comparación de valores medios y evolución con la edad de la profundidad del menisco lagrimal

Con respecto a los valores medios obtenidos, en este trabajo el resultado medio para B es  $160.81 \pm 72.26 \mu\text{m}$ , levemente inferior al obtenido por otros autores para sujetos sanos para TMD y que podemos observar en el Anexo V, de  $168.53 \pm 50.78 \mu\text{m}$  (Czajkowski et al., 2012), y considerablemente inferior a otros que obtuvieron  $210 \pm 60 \mu\text{m}$  (Zhou et al., 2009). Estas diferencias puede explicarse, en el caso concreto del trabajo de Zhou et al. (Zhou et al., 2009) por lo escaso de la muestra empleada ( $n = 20$ ), y en general, de forma análoga al anterior parámetro, por la inclusión en nuestra muestra 4, además de sujetos normales, de otros diagnosticados como EDE, ADDE, y formas mixtas. De otro lado, y de especial importancia en este parámetro, la forma de medir este parámetro difiere considerablemente en la bibliografía, lo que se desarrolla más adelante en esta discusión de una forma más detallada.

En lo relativo a la evolución con la edad, como en el caso de la altura del menisco, en la profundidad tampoco se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en este trabajo en la mediana de los 7 grupos establecidos por décadas de edad entre los 10 y los 79 años ( $p = 0.177$ ). Si bien, también es preciso indicar que, como en el anterior parámetro A, también se encuentra un mayor número de casos extremos en las décadas de edad más avanzadas (Figura 4.7.), con una tendencia creciente de las medianas, lo que podría explicarse de forma también análoga a éste al tratarse ambos de parámetros relacionados con el volumen lagrimal de los sujetos. Como también se puede justificar de forma análoga a TMH que el resultado de TMD no coincida con Qiu Gong Sun y Jin en 2011, que es el único trabajo que ha estudiado la evolución

con la edad de este parámetro en 4 grupos de edad, y en el que se encontró que estaban relacionados de forma negativa con la edad (Qiu Gong Sun y Jin, 2011).

#### 5.1.4.3. Comparación de valores medios y evolución con la edad del área del menisco lagrimal

Los valores medios obtenidos en este trabajo para el área LIMA han sido de  $13865.94 \pm 14443.10 \mu\text{m}^2$ . Como puede observarse en el Anexo V, exceptuando el valor inusualmente bajo de  $3414 \pm 1715 \mu\text{m}^2$  (Ibrahim et al., 2010) con un Visante OCT (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), en el rango más pequeño entre la bibliografía que en una muestra de población de sujetos sanos analizan TMA, podemos observar  $15927 \pm 4431 \mu\text{m}^2$  (Shen et al., 2009) realizado con un FD-OCT customizado, y en el rango superior  $46200 \pm 20000 \mu\text{m}^2$  (Czajkowski et al., 2012) realizado con un FD-OCT RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*). La mayor parte de los estudios sitúan la media del área del menisco entre  $20000$  y  $30000 \mu\text{m}^2$  (Wang et al., 2006; Zhou et al., 2009; Shen et al., 2009; Fukuda et al., 2013; Akiyama, Usui y Yamagami, 2015).

La media obtenida en este trabajo es también por tanto inferior a otros estudios, y de igual forma que los anteriores parámetros que hacen referencia al volumen lagrimal, podemos explicar en parte este resultado bajo y la mayor desviación estándar de la media a la mezcla de sujetos ADDE, EDE y mixtos recogidos en nuestra muestra 4, que puede originar esta mayor dispersión de datos.

Por otro lado, como también veíamos en los parámetros anteriores, hay ciertos aspectos de carácter demográfico que podrían influir en la diferencia entre las medidas obtenidas. En la mayoría de estos estudios, las muestras son mucho más pequeñas que en el nuestro (la mayoría de ellas no superan los 20 sujetos), y además son realizadas sobre sujetos de raza asiática, que de la misma forma que presentan características fisiológicas diferentes en sus párpados, pueden presentar diferente fisiología en sus meniscos.

En lo referente a la evolución con la edad, como en el caso de los otros dos anteriores parámetros también relacionados con la cantidad de lágrima, en el área LIMA tampoco se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la mediana entre los 7 grupos establecidos por décadas de edad entre los 10 y los 79 años ( $p = 0.429$ ). Pero es preciso indicar que también se encuentra una mayor asimetría y mayor número de casos extremos en este parámetro en casi todos los grupos de edad. Y, además, esta asimetría y número de casos extremos se incrementa aún más en las décadas de edad más avanzadas, con una tendencia

## DISCUSIÓN

creciente de las medianas entre grupos de edad (Figura 4.10). Esto podría explicarse de forma también análoga a los anteriores, al tratarse de otro parámetro relacionado con la capacidad de producción lagrimal de los sujetos, y que en el caso del área los resultados se exacerban en mayor medida al ser su cuantía proporcional a estos parámetros anteriormente descritos (A y B). Al igual que ocurría con TMH, estos resultados son coincidentes con el trabajo de Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder de 2014, donde no se han encontrado diferencias significativas ( $p = 0.976$ ) en este caso en TMA entre un grupo control formado por sujetos asintomáticos menores de 50 años y otro de mayores de 50 años (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014), pero difieren del trabajo de Qiu, Gong, Sun, y Jin de 2011 en el que dividiendo en cuatro grupos de edad un grupo control encontraron que estaban relacionados negativamente con la edad (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011). Si bien en nuestro caso, la muestra y su estratificación ha sido mayor que en ambos, y en cualquiera de los casos los valores obtenidos son notablemente menores, podríamos justificar las diferencias con este último trabajo que exponíamos para TMH, ya que, de forma análoga, este es un parámetro relacionado con el volumen de producción lagrimal de los sujetos en estudio.

### 5.1.4.4. Comparación de valores medios y evolución con la edad del radio de curvatura del menisco lagrimal

Son muy escasos los trabajos que analizan el radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal en sujetos sanos, y no se ha encontrado ninguno que estudie su evolución con la edad (Anexo V).

En nuestro estudio, el valor medio obtenido para R ha sido de  $578.89 \pm 296.66 \mu\text{m}$ , mucho mayor que en el caso de estudios realizados con un TD-OCT customizado en el que TMR fue de  $259.7 \pm 153.0 \mu\text{m}$  (Wang et al., 2006), o de  $251 \pm 48 \mu\text{m}$  con un FD-OCT customizado (Shen et al., 2009). Esta diferencia tan elevada puede deberse a la diferente forma de calcular este parámetro, lo que se desarrolla más ampliamente en la sección 5.2.10.

En cuanto a la evolución con la edad de R, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la mediana entre los 7 grupos de edad analizados ( $p = 0.810$ ). Pero, por otro lado, ha sido el parámetro para el que más dispersión de datos y valores extremos se ha encontrado en todos los grupos de edad, tal como puede observarse en la Figura 4.8. Esto podría justificarse por la combinación dos motivos: la heterogeneidad y amplitud de la muestra, y la dificultad para medir R en meniscos más pequeños, donde la necesaria medida de la ságita (L) con el método LIMA es de muy pocas micras, siendo con diferencia la más crítica de todas.

#### 5.1.4.5. Evolución con la edad del ángulo de contacto del menisco lagrimal

Como ya hemos comentado anteriormente, no es posible la comparación de los resultados de este parámetro con otros estudios posteriores.

Aunque no se ha demostrado estadísticamente en conjunto, del análisis de las medianas y los diagramas de cajas parece observarse una tendencia de aumento del ángulo de contacto a partir de la 5ª década de edad. Por otro lado, es el parámetro donde menos se encuentran valores anómalos, exceptuando el grupo de 60-69 años, que presenta mayor número en proporción al tamaño muestral, tanto en los límites superiores como en los inferiores (Figura 4.9), además de ser el único grupo de edad que presenta diferencias significativas más elevadas con otros (grupo de 10-19 años y 40-49 años).

A la vista de los resultados obtenidos de la muestra 4 del objetivo 2.1. de este trabajo, cuyos datos demográficos podemos observar en Tabla 4.2, se rechaza la hipótesis 2 planteada de forma general: los parámetros del menisco lagrimal, cuantificados con el método LIMA, se ven alterados con la edad en la población normal. Tan sólo habría una excepción particular en el parámetro  $\vartheta$ , con un mayor ángulo de contacto en el grupo de 60-69 años frente al de 10-19 años y al de 40-49 años.

#### **5.1.5. Diferencias entre sexos de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA**

El objetivo 2.2. consiste en comparar si existen diferencias entre sexos en los parámetros geométricos analizados. Para ello se ha empleado nuevamente la muestra 4, pero esta vez dividiéndola en 2 grupos iguales de 140 sujetos en función de su sexo, con una edad media para el grupo de las mujeres de  $44.19 \pm 19.85$  años y de  $44.69 \pm 20.34$  años (Tabla 4.8), muy similares por tanto por las características de la muestra.

Los resultados obtenidos en esta tesis demuestran que, a pesar que como se vio en la sección 1.2.4.1. pueden encontrarse diferencias en la prevalencia de determinadas formas de ojo seco en mujeres frente a hombres, el estudio de una muestra general de población no parece demostrar que existan diferencias significativas en los parámetros del menisco lagrimal medidos con OCT.



Estos resultados coinciden con algunos estudios (Shen et al., 2008), en el que realizando repetidas durante el transcurso del día no se encontraron diferencias en el menisco lagrimal inferior entre hombres y mujeres en los parámetros TMH, TMA y TMR.

A pesar de ello, de los valores de tendencia central obtenidos en esta tesis puede afirmarse que en los parámetros que reflejan el volumen lagrimal de los sujetos analizados: A, B, y área LIMA, se observa una menor cuantía para las mujeres que para los hombres, diferencia que se invierte en el caso de R, y que es prácticamente igual en el caso de  $\vartheta$ .

Aunque hay que tener en cuenta que la potencia estadística obtenida en la comparación entre ambos sexos es muy pequeña, con un valor de r que ha oscilado entre 0.05 del parámetro área LIMA y 0.09 para  $\vartheta$ . Esto puede explicarse por la variabilidad de los resultados y la amplitud de las desviaciones estándar encontradas para cada uno de los parámetros, obtenidas de muestras compuestas por sujetos de diferentes características.

Por ello, en base a los datos obtenidos de la muestra 4, puede rechazarse la hipótesis 3 planteada, y podemos afirmar por tanto que, en una muestra global de población entre 10 y 79 años, el género no parece influir en los resultados geométricos obtenidos del menisco lagrimal valorados con el método LIMA.

#### **5.1.6. Comparación entre grupos de sujetos sanos, ADDE y EDE, de los parámetros del menisco lagrimal obtenidos con el método LIMA**

Es numerosa la bibliografía que ha analizado los parámetros del menisco lagrimal para su aplicación en el diagnóstico del DED durante los aproximadamente veinte años que se lleva aplicando la tecnología AS-OCT, algunos de cuyos trabajos resumimos en el Anexo VI.

Por citar algunos ejemplos más antiguos, en el estudio realizado en 2006 por Savini, Barboni y Zanini ya afirmaban que la TD-OCT podía ser usada para visualizar el menisco inferior, y midiendo su altura discriminar entre pacientes normales y con ojo seco, y autores como Zhou et al. en su estudio de 2009, consideraron al instrumento FD-OCT RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) como útil para medir la severidad del DED, a través de la medida de TMH, TMD, TMA y  $\alpha$ . Otros estudios más recientes como el de Akiyama, Usui y Yamagami de 2015, consideran la SS-OCT como un método práctico para la evaluación cuantitativa del fluido lagrimal y un potencial método para la detección o sospecha del ojo seco.

## DISCUSIÓN

En lo relativo a estudios que analizan la eficiencia diagnóstica, del que realizamos un resumen en el Anexo VII, podemos citar también otros trabajos como de Qiu, Gong, Sun, y Jin de 2011, en el que a partir de los puntos de corte que propusieron para el diagnóstico de ojo seco para cada uno de los 4 grupos de edad en los que agruparon a los 146 pacientes con DED (37 hombres y 109 mujeres) y que compararon con los grupos de ojos sanos, la capacidad de diagnóstico de ojo seco fue moderada para TMH, TMD y TMA, y sugirieron que por si sola presenta limitaciones en el diagnóstico del ojo seco, siendo más sensible al ojo acuodeficiente. En el estudio de Czajkowski et al. de 2012, TMA, TMH, y TMD fueron significativamente menores en el grupo de DED, mostrando en este caso una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico.

En esta tesis, el objetivo 2.3. se centra en observar diferencias entre tres grupos: sanos, EDE y ADDE, sobre los diferentes parámetros del menisco lagrimal inferior obtenidos a través del método LIMA, por lo que se procede a analizar y comparar por separado con trabajos anteriores TMH, TMD, TMA y TMR, y a analizar exclusivamente los resultados obtenidos del parámetro  $\theta$  (sin bibliografía anterior).

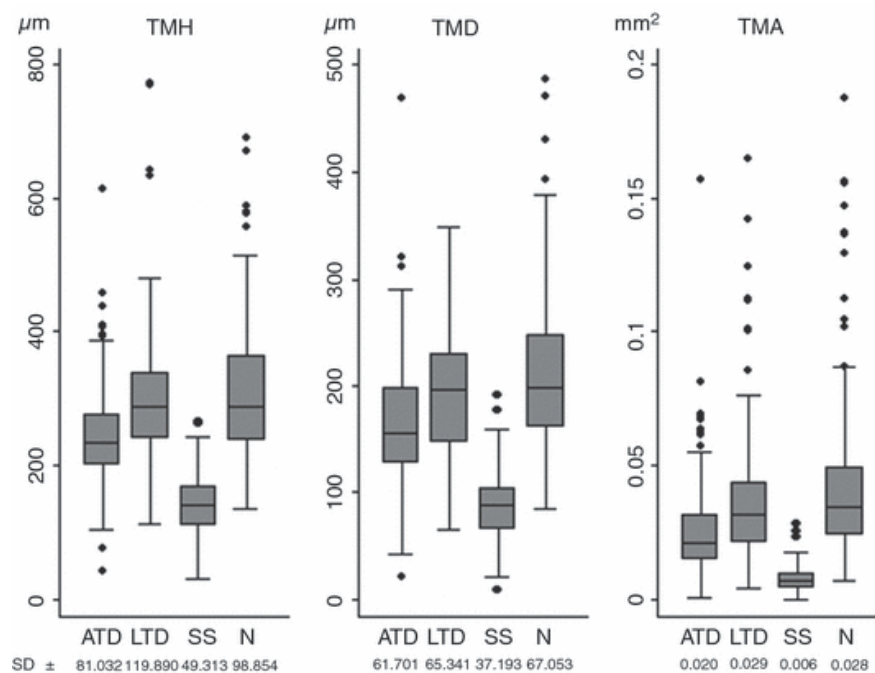
Deberíamos comenzar señalando que la muestra finalmente recopilada a este efecto (muestra 5) es escasa, tal como se vio en la Tabla 4.14 que recoge los datos demográficos en el apartado de resultados: en el caso del grupo de EDE son 19 sujetos, del grupo de ADDE son 7, y en el grupo de sanos son 20. Independientemente de la edad media y el sexo de los sujetos que componen los 3 grupos, los resultados obtenidos deben ser pues tomados como no concluyentes, ya que la potencia estadísticas de unas muestras tan escasas es baja, por lo que, en cualquier caso, los resultados obtenidos deben ser refrendados por estudios posteriores que pueden aportar una mayor fiabilidad estadística.

### 5.1.6.1. Altura del menisco lagrimal en el ojo seco

De manera general, los estudios que analizan la altura del menisco lagrimal como indicador de DED llegan a la conclusión que éste debe ser tomado como un método de imagen clínico objetivo (Savini, Barboni y Zanini, 2006), obteniendo valores de TMH más pequeños a mayor grado de severidad de la enfermedad (Wang et al., 2009), y como vemos en el Anexo VII, presentando una buena sensibilidad y especificidad diagnóstica (Shen et al., 2009; Wang et al., 2009; Ibrahim et al., 2010; Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) a partir de valores de corte que los diferentes autores sitúan entre 164 y 300  $\mu\text{m}$ .

En la presente tesis, la distribución de la altura del menisco lagrimal inferior medida con el método LIMA (A, o su equivalente TMH), es diferente en pacientes DED que en sujetos sanos ( $p < 0.001$ ). Y esta diferencia significativa se ha encontrado sólo en el grupo de los ADDE, en el que incluimos los SS y los no SS, frente al grupo de EDE y el grupo de sanos. En la comparación entre EDE y sanos tampoco se encontraron diferencias.

Estos resultados son coincidentes con trabajos anteriores (Qiu et al. en 2012) en el que se calcularon diferentes puntos de corte de TMH en función del grupo de pacientes con ojo seco. Estos puntos de corte fueron, para los acuodeficientes no SS de 248.33  $\mu\text{m}$ , para lipodeficientes de 256.00  $\mu\text{m}$ , y para los SS de 141.33  $\mu\text{m}$ , y encontraron que la precisión en el diagnóstico es mayor en pacientes con SS y menor en aquellos pacientes con deficiencias en la capa lipídica. La media de TMH, TMD, TMA, de los sujetos con ojo seco fue significativamente inferior que los del grupo control ( $p < 0.05$ ), y los valores de estos parámetros eran significativamente inferiores en pacientes con SS comparados a pacientes con deficiencia acuosa o lipídica (Figura 5.1.).



**Figura 5.1.** Gráficos de las medidas del menisco lagrimal: altura (TMH, izquierda), profundidad (TMD, centro) y área (TMA, derecha), en base a la etiología de pacientes con sequedad ocular: ATD (deficiencia acuosa), LTD (deficiencia de lípidos) y SS (Síndrome de Sjögren), además de sobre un grupo control (N) (Qiu et al., 2012).

## DISCUSIÓN

Asimismo, coincide con otro estudio (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014), en el que sobre una muestra de sujetos clasificados dentro de 4 grupos: sujetos normales (sin síntomas o deficiencia lagrimal), MGD, ADDE no SS y ADDE SS, el parámetro TMH del menisco lagrimal inferior fue significativamente menor que el grupo control en la media de todas las disfunciones lagrimales, excepto el caso de la MGD, grupo en el que aunque también tuvieron una menor media de TMH que el grupo control, las diferencias no fueron significativas ( $p = 0.43$ ).

Como ya indicaron algunos autores (Shen et al., 2009, Qiu et al., 2012 y Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014), podemos constatar que el resultado de nuestro estudio realizado sobre la muestra 5 sigue la misma tendencia, por ello A puede considerarse un parámetro válido para diagnosticar casos con ADDE, si bien en nuestro trabajo no se ha distinguido entre subgrupos de SS o no SS, como en el de estos autores anteriormente citados.

Se debe destacar que los valores medios obtenidos en nuestra investigación para los tres grupos diagnósticos son notablemente inferiores a los de los otros estudios consultados, lo que podría explicarse, entre otros motivos posibles, por las diferentes razas de la muestra de la población analizadas, y sobre todo, por los diferentes instrumentos utilizados y los criterios de selección empleados (lo que se amplía más adelante en la sección 5.3. de esta discusión).

### 5.1.6.2. Profundidad del menisco lagrimal en el ojo seco

Al igual que ocurre en la altura del menisco lagrimal, los estudios que analizan TMD como indicador de DED refieren que este parámetro puede ser empleado para su diagnóstico. Por ejemplo, Czajkowski et al. en 2012, obtuvieron una buena sensibilidad y especificidad para su diagnóstico en función del punto de corte que establecieron para este parámetro, aunque sustancialmente inferiores que las que obtuvieron para TMH y TMA (Anexo VII).

En este trabajo, como en el caso de A, se ha demostrado que la profundidad del menisco lagrimal (B) es diferente en pacientes DED que en sujetos sanos. Y de la misma forma, la diferencia estadísticamente significativa se ha encontrado tan sólo entre el grupo de los ADDE frente al grupo de EDE y frente al grupo de sanos. En la comparación entre EDE y sanos no se han encontrado diferencias.

Es de destacar que, tal como también ocurría con A, los resultados son similares a los trabajos previos, pero los valores medios obtenidos para los tres grupos diagnósticos también son

notablemente inferiores a los otros estudios citados, lo que puede explicarse también de igual forma que para A.

Por otro lado, para este parámetro, aun sin poderse demostrar su significancia, los valores medios en el grupo de los EDE son inferiores que el grupo de sujetos sanos, al contrario que ocurría con A, lo que sigue la misma tendencia que el estudio de Qiu et al. de 2012, en el que encontraron para TMD una eficiencia diagnóstica en este caso mayor (67.06%) en los pacientes con DED por deficiencia lipídica, frente a otros parámetros como TMH (45.49%) o TMA (46.27%). En los pacientes con DED por deficiencia acuosa no SS (68.12%) y SS (92.41%) mostró sin embargo valores similares de eficiencia frente a éstos (Qiu et al., 2012).

#### 5.1.6.3. Área del menisco lagrimal en el ojo seco

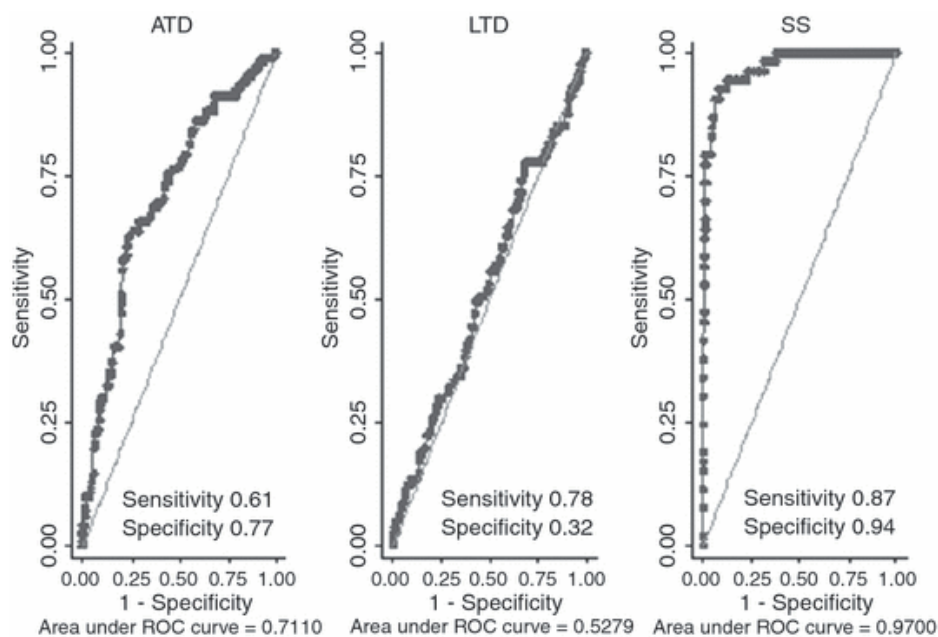
Al igual que como con TMH, de manera general, los estudios que analizan TMA señalan una aceptable eficiencia diagnóstica como indicador de DED (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015).

Además, en gran parte de estos estudios, a partir de los valores de corte establecidos por los autores, TMA ha demostrado ser más precisa que otros parámetros, como TMH (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011; Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), TMD (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011) y TMV (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) para el diagnóstico de ojo seco. Aunque también podemos encontrar otros estudios (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014), que evaluaron las relaciones entre las dimensiones del menisco y distintos parámetros de ojo seco, y que no confirmaron que TMA constantemente tuviese una mejor correlación sobre éstos que TMH en la media de todos los grupos de ojo seco, y otros (Shen et al., 2009) que incluso la consideraron menor que otros parámetros estudiados como TMH y TMR.

En esta tesis, como en el caso de los dos anteriores parámetros relacionados con el volumen de producción lagrimal analizados (A y B) sobre la muestra 5, también se ha demostrado que la distribución del área LIMA es diferente en pacientes DED que en sujetos sanos. Y de la misma forma, la diferencia estadísticamente significativa se ha encontrado tan sólo entre el grupo de los ADDE frente al grupo de EDE y frente al grupo de sanos. En la comparación entre EDE y sanos, aunque en el primer grupo encontramos valores medios mayores, no se encontraron diferencias significativas.

Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos en otros estudios, que señalaron que TMA inferior era significativamente menor en un grupo de pacientes ATD que en otro de sanos (Shen et al. en 2009); y que encontraron una mayor eficiencia diagnóstica para los

acuodeficientes (mayor en los SS que en los no SS) que para los lipodeficientes (Qiu et al. en 2012) tal como podemos ver en la Figura 5.2. Por tanto, de la misma forma que para A, como ya indicaban Qiu et al. en 2012, podemos afirmar también que el área del menisco medida con el método LIMA puede considerarse un parámetro válido para diagnosticar casos con ADDE, aunque en esta tesis no se ha distinguido entre subgrupos de SS o no SS.



**Figura 5.2. Curvas ROC para los diferentes puntos de corte del área del menisco lagrimal, establecidos por los autores en función del tipo de ojo seco: acuodeficientes (ATD), lipodeficientes (LTD) y síndrome de Sjögren (SS) (Qiu et al., 2012).**

Sin embargo, los resultados obtenidos en esta tesis en cierta forma contradicen, por un lado, otros estudios (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder, 2014), que en el caso de TMA no encontraron que el menisco lagrimal inferior fuese significativamente menor que el grupo control para la media de los dos grupos ATD, encontrando diferencias tan sólo frente a los SS ATD. Esta circunstancia, junto a que como también ocurría para los anteriores parámetros analizados, los valores medios obtenidos para el área del menisco lagrimal medidos con el método LIMA son notablemente inferiores a los de otros estudios consultados, podrían deberse a la suma de diferentes factores que podemos dividir, como ya hemos adelantado para los parámetros A y B en dos grupos: los relacionados con las características de la muestra, como la raza o los puntos de corte elegidos para clasificar los grupos, y los relacionados con la metodología empleada, entre los que podemos encontrar desde el instrumento utilizado, al protocolo utilizado para la toma de

medidas, aspectos todos ellos que se desarrollan posteriormente de manera individualizada y más amplia en esta discusión.

Y por otro lado también contradicen, tal como puede observarse en el círculo fisiopatológico del DED (Figura 1.6), que la hiperosmolaridad de las lágrimas y la SPK, a su vez, estimulen las terminaciones nerviosas corneales, lo que provoca molestias, un aumento de la frecuencia de parpadeo y posiblemente un aumento reflejo compensatorio de la secreción lagrimal en los casos donde la función de la glándula lagrimal es potencialmente normal (Craig et al., 2017 B; Bron et al., 2017), ya que en nuestro trabajo no se han encontrado en ninguno de los parámetros relacionados con el volumen un aumento significativo de sus medidas en sujetos EDE frente a los sanos. En este caso, puede aceptarse que quizás pueda producirse un aumento de la secreción lagrimal en los primeros estadios del EDE, pero por la clasificación realizada de las muestras éstas van a estar compuestas por casos en estadios más avanzados, donde como también veíamos en la introducción pueden mezclarse características de ambas formas (EDE y ADDE), y la glándula lagrimal puede no ser completamente funcional en todos los sujetos analizados.

#### 5.1.6.4. Radio de curvatura del menisco lagrimal en el ojo seco

Aunque poco estudiado, el radio de curvatura del menisco lagrimal es considerado un valor diagnóstico del DED, ya que está reducido en el ADDE (Bron et al., 2017).

Shen et al. en 2009, para un valor de corte de TMR de 182  $\mu\text{m}$  encontraron un 0.92 de sensibilidad y 0.87 de especificidad diagnóstica, con un área bajo la curva ROC de 0.95, similar a la obtenida con la medida de TMH, ambas superiores en este estudio a las de TMA. Pero en esta tesis, a partir de los datos obtenidos de la muestra 5 se ha demostrado que la distribución de R es similar en pacientes DED que en sujetos sanos, encontrándose valores medios similares en el grupo de EDE que en el de ADDE, aunque ambos inferiores al de sanos, lo que si coincide con el citado trabajo (Shen et al., 2009), en el que encontraron que TMR del menisco inferior era significativamente menor en un grupo de pacientes ATD que en otro de sanos ( $p < 0.01$ ). A pesar de que en el estudio de Shen et al. en 2009 TMR presenta una de las mejores capacidades diagnósticas de las recogidas en este trabajo para ojos acuodeficientes, en la muestra 5 empleada en esta tesis no se han encontrado diferencias, como tampoco son coincidentes por ser mucho más elevados los valores medios de R recopilados en nuestro trabajo, discrepancias que se justifican más adelante de forma más detallada en esta discusión.

## DISCUSIÓN

Por todo lo anterior, a partir de la muestra 5 obtenida en este estudio, puede aceptarse la hipótesis 4 planteada, y podemos afirmar por tanto que existen diferencias geométricas de determinados parámetros medidos con el método LIMA en sujetos asintomáticos versus sujetos con síntomas y signos de sequedad ocular. En particular se han encontrado entre el grupo de ADDE frente al de EDE y al de sanos, en los parámetros A, B y área LIMA.

### 5.1.6.5. Ángulo de contacto del menisco lagrimal en el ojo seco

Una vez analizados los parámetros sobre los que consta bibliografía anterior, procedemos a describir y analizar de forma crítica los resultados del parámetro  $\vartheta$ , obtenidos a través de la aplicación del método LIMA para la medida del menisco lagrimal inferior sobre la muestra 5.

En lo relativo al menisco lagrimal, podemos encontrar bibliografía que analiza su dinámica:

El volumen del menisco está directamente relacionado con el volumen total de fluido lagrimal (estimado en aproximadamente 7 mililitros (ml) y con el ratio de secreción lagrimal ( $1.03 \pm 0.39$  ml por minuto). Esto supone un tiempo de renovación lagrimal de  $16.19 \pm 5.10$  % por minuto. El fluido lagrimal producido en las glándulas lagrimales y la conjuntiva es distribuido por la superficie ocular y más tarde, la parte que no se ha perdido por evaporación, evacuado del menisco lagrimal a través del sistema nasolagrimal.(Willcox et al., 2017)

La presión hidrostática negativa en el interior del menisco es responsable de que su superficie externa sea cóncava, y de la oposición al flujo acuoso hacia los orificios lagrimales, de manera que sólo es posible el drenaje durante los primeros 2 segundos tras el parpadeo, efecto que se realiza cuando el volumen lagrimal del menisco cae.(Bron et al., 2017)

Como ya veíamos en la sección 1.5., McDonald y Brubaker en 1971 sugirieron que la reducción de la presión hidrostática ( $\Delta P$ ) en cada menisco puede derivar de la ecuación de capilaridad:  $\Delta P = \gamma (1/r_1 + 1/r_2)$ ; donde  $\gamma$  es la tensión superficial del fluido,  $r_1$  el radio de curvatura del menisco lagrimal (TMR), y  $r_2$  la componente vertical del radio de curvatura de la tira que forma el menisco a lo largo del párpado, y dedujeron que la presión hidrostática negativa de cada menisco lagrimal es directamente proporcional a la tensión superficial del fluido lagrimal e inversamente proporcional a su curvatura. Este “servomecanismo” lo aplicaban al estudio del parpadeo, la evacuación que se produce del fluido lagrimal a través del punto lagrimal, y la consiguiente restitución del menisco y la película lagrimal. En su teoría llegaron a la conclusión que al evacuarse parte del fluido lagrimal a través del punto lagrimal con el parpadeo, la presión



## DISCUSIÓN

hidrostática negativa generada en el menisco puede inducir que el fluido se sustituya por el de la película lagrimal. A medida que de nuevo se llena el menisco, se vuelve menos cóncavo, con lo que disminuirá la presión por capilaridad, manteniéndose así un límite en la cantidad de fluido que entra en el menisco. (McDonald y Brubaker, 1971)

En otros estudios (Johnson y Murphy, 2006) se investigó la formación del menisco lagrimal tras el parpadeo, a través de múltiples imágenes del menisco superior e inferior, capturadas secuencialmente usando un sistema de vídeo con lámpara de hendidura. Estas imágenes fueron tomadas en ambos meniscos, tanto de forma frontal para medir TMH, como tangencialmente para el menisco inferior, de forma que pudiesen observarse cambios de TMR en el tiempo. Además, cuantificaron la relación entre TMH y el volumen lagrimal instilando fluido en pequeñas cantidades con la ayuda de anestesia y tapones lagrimales. Los autores encontraron que en el menisco superior e inferior la cantidad de lágrima se incrementa de forma similar tras el parpadeo, y sugirieron que la influencia de la gravedad, contraria al movimiento de la película lagrimal hacia arriba en el menisco superior, puede considerarse despreciable. Para ellos, esto sugiere que la capilaridad domina a la gravedad en el drenaje lagrimal. No obstante, esto podría simplemente reflejar que esas influencias son pequeñas comparadas con la gran resistencia del fluido que ocurre en películas delgadas, la conexión hidráulica entre los dos meniscos, o a diferencias en la anchura antero-posterior que conducen a un desequilibrio en la relación del volumen y la altura. Como también han corroborado otros autores (Yokoi et al., 2008), según la teoría de Johnson y Murphy de 2006 TMR se incrementa con el tiempo tras el parpadeo ( $p < 0.0001$ ), e inmediatamente que el ojo se abre la curvatura del menisco inferior es aproximadamente circular, pero rápidamente se vuelve excéntrica, sobrepasando el radio de mitad superior al de la inferior. El ratio de crecimiento de los dos meniscos disminuyen con el tiempo, y esto, basado en consideraciones teóricas, se predice que ha ocurrido principalmente porque el adelgazamiento localizado de la película lagrimal adyacente a los meniscos aumentó notablemente la resistencia al flujo. La TMH inferior aumentó linealmente con el volumen acumulado de líquido instilado, lo que respalda su uso en el diagnóstico y clasificación de anomalías lagrimales, aunque el gradiente de esta relación varió entre sujetos.

Respecto a la dinámica de la TFL y en particular de la TFLL:

La película lagrimal es una estructura bastante estable, incluso con los movimientos oculares sus capas permanecen inalteradas (Bron et al., 2017).

Y como hemos visto anteriormente en la teoría de Johnson y Murphy en 2006, pueden encontrarse estudios (Palakuru et al., 2007) que demuestran que el grosor de la TFL se

## DISCUSIÓN

incrementaba significativamente tras el parpadeo ( $p < 0.05$ ) pero decrece ( $p < 0.05$ ) durante el periodo de apertura del ojo.

Como ya se vio en la sección 1.5., existen algunas evidencias en el análisis de TMR, con respecto a los cambios que en el ojo seco se producen en la tensión superficial y viscosidad de la lágrima, estableciéndose relación entre TMR medido por meniscometría por reflexión y el grado de capa lipídica lagrimal medido por interferometría (Ibrahim et al., 2010).

El menisco lagrimal se forma en unos pocos cientos de milisegundos después de la apertura durante el parpadeo. Se forma por las fuerzas de tensión superficial que se generan al separarse los párpados, y la presión hidrostática negativa que se genera dentro del menisco incipiente, que extrae agua desde la película lagrimal en formación, causando que los dos compartimentos se separen en esa zona de adelgazamiento inducida por el menisco, en la que sin embargo, la capa lipídica permanece intacta. La estructura de la TFL también permanece moderadamente intacta, incluso durante parpadeos consecutivos, comprimiéndose durante el cierre y restituyéndose durante la apertura.(Willcox et al., 2017)

En el caso particular de la alteración de la TFL:

Parece ser que el adelgazamiento de la TFL que se produce en la zona superior aumenta la tensión superficial, que actúa como fuerza generadora del esparcimiento lagrimal. Además, hay que tener en cuenta que la TFL reduce la tensión superficial de la lágrima, lo que evita el colapso de la fina estructura de la TFL.(Willcox et al., 2017).

En la sección 1.5. también justificábamos esta disertación ya que en los casos con MGD, las alteraciones sufridas en la capa lipídica se puede esperar que conduzcan a aumentar la tensión superficial del fluido lagrimal (Doane, 1994), y por ello aumentar la presión hidrostática manteniendo en teoría unos radios menos curvados.

La TFL disminuye la tensión superficial de la lágrima a  $43.6 \pm 2.7$  mN/m, medidos en sujetos sanos, teniendo en cuenta que después de la delipidación de esta capa los valores aumentan hasta  $53.0 - 55.5$  mN/m. Este dato es muy cercano al valor observado en muestras de pacientes con DED, de  $49.6 \pm 2.2$  mN/m. Y una vez que se ha delipidado la lágrima, la tensión superficial no se restaura si se suplementa con lípidos meibomianos, por lo que se supone que la tensión superficial normal debe también quizás depender de algunas proteínas y glicoproteínas de la capa mucoacuosa, como la lipocaína, lisozima y mucina, que se piensa que se intercalan con la TFL, pero que tardan horas en penetrar. El aumento de la tensión superficial en el ojo seco implica un contenido proteico anormal en la interfaz aire-lágrima como consecuencia de una capa lipídica comprometida.(Willcox et al., 2017)

Con respecto a la capa mucoacuosa:

En la película precorneal se cree que este gel es secretado principalmente por las células de Goblet tarsales, mientras que en la película prebulbar parece ser que es una mezcla de mucinas de las tarsales y de las bulbares. Aunque tradicionalmente se consideraba a la TFL como una barrera a la evaporación lagrimal, estudios más recientes han sugerido que la evaporación de la capa mucoacuosa de la que es responsable no supera el 10%. (Bron et al., 2017)

Basados en estos hallazgos sobre la influencia de la capa mucoacuosa, autores como Zhou et al. en 2009, analizando el ángulo formado por la superficie ocular y la cara externa del menisco, explican que la forma cóncava del menisco es debida a que la córnea y el párpado son superficies hidrofílicas, si no sería convexa, por lo que consideran que éste ángulo (que denominan  $\alpha$ ) es una medida de la humectabilidad corneal. Determinaron un CV de 11.3% en la misma visita, y entre visitas un CV de 12.2% y un CCI de 0.367. Según estos autores, el bajo CV pero alto CCI calculados demuestran que el ángulo tiene una pequeña varianza en la población normal, con un valor medio de  $34.4 \pm 4.4^\circ$ .

En esta Tesis Doctoral, la media del ángulo de contacto ( $\theta$ ) obtenida es significativamente diferente entre los grupos de DED y el de sanos. Las comparaciones por pares muestran que las diferencias se producen entre el grupo de ADDE frente al grupo de EDE y frente al grupo de sanos, pero no entre el de EDE y sanos.

Es importante destacar que los resultados obtenidos con  $\theta$  son los que presentan una menor asimetría y existencia de casos anómalos de todos los parámetros analizados en este trabajo en sus diferentes objetivos, sobre todo comparándolo con R.

A falta de estudios más amplios, este parámetro, a diferencia de R, relaciona de una manera más directa el tamaño del menisco con su curvatura, por lo que parece demostrar de forma más precisa las diferencias entre grupos eminentemente ADDE de los eminentemente EDE, respaldando además las teorías que justifican el último objetivo de este trabajo y que describíamos anteriormente sobre la tensión superficial y su relación con la curvatura del menisco.

Para terminar, resaltar también que aunque no se han encontrado diferencias significativas, a diferencia también del resto de parámetros,  $\theta$  es mayor en el grupo de EDE que en el de sanos. Esto supone un argumento más para seguir indagando si puede llegar a demostrarse una posible diferencia de sujetos EDE frente a un grupo control en una muestra más numerosa, que pueda

## DISCUSIÓN

justificar que se pueda utilizar como herramienta para poder distinguir ambos grupos en función de este parámetro, lo que a su vez sería muy interesante en la valoración de formas mixtas de DED.

Por todo ello podemos aceptar en parte la hipótesis 5 planteada. El método LIMA es un sistema válido de clasificación del ojo seco no relacionado con otras enfermedades de la superficie ocular, pero tan sólo se ha demostrado en el caso de los ADDE, ya que cualquiera de sus parámetros relacionados con el volumen de producción lagrimal (A, B, o Área LIMA), en mayor o menor medida podrían ser indicadores fiables. En el caso de los EDE, ∅ se ha demostrado como un parámetro válido para distinguir también sujetos ADDE, pero deberán realizarse estudios más amplios que puedan ser extrapolados a una población real y demuestren su validez para distinguir sujetos EDE.

## **5.2. Protocolo LIMA como alternativa a otros métodos de medida del menisco lagrimal**

En este apartado se tratarán los hallazgos encontrados en la literatura y sus implicaciones con respecto a determinados factores en el proceso de captura y medición sobre las imágenes, planteados en el protocolo LIMA que proponemos en esta tesis para la medida de los parámetros geométricos del menisco lagrimal, y que pueden influir en las medidas finalmente obtenidas o en la dificultad para la obtención de estos parámetros.

### **5.2.1. Momento del día**

Realizando mediciones del menisco durante el transcurso del día, algunos autores (Shen et al., 2008) han observado un incremento en todas las dimensiones posterior al sueño (a las 7:00 AM), inmediatamente después del despertar, y que permanece elevado durante 10 minutos, momento a partir del cual no encontraron diferencias frente a las de antes del sueño (10:00 PM).

No parece por tanto relevante la franja horaria idónea a la que se lleven a cabo la toma de muestras, por lo que no se especifica en el protocolo de toma de medidas propuesto.

### **5.2.2. Instante de la captura**

Ya en 2006, Wang et al. propusieron que una de las razones de los resultados contradictorios en las medidas del menisco lagrimal, puede deberse a que no todos los estudios realizan la medición en el mismo momento tras el parpadeo (Wang et al., 2006), lo que en 2015 seguía siendo una afirmación válida para Akiyama, Usui y Yamagami en su estudio (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015).

Es numerosa la bibliografía consultada en la que la captura se realiza de forma inmediata (aproximadamente dentro del primer segundo) tras el parpadeo (Shen et al., 2008; Shen et al., 2009; Keech, Flanagan, Simpson y Jones, 2009; Ibrahim et al., 2010; Chen et al., 2010; Qiu, Gong, Sun y Jin, 2011; Czajkowski et al., 2012; Fukuda et al., 2013; Arriola-Villalobos et al., 2015). Algunos autores (Keech, Flanagan, Simpson y Jones, 2009) justifican este instante por la naturaleza dinámica de la película lagrimal, y de esta forma poder minimizar su influencia. Otros autores (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011) lo justificaron aduciendo que TMH también podría estar influenciada por la longitud del párpado, la localización del punto lagrimal y el tiempo en que

## DISCUSIÓN

los ojos están abiertos. Aunque podemos encontrar otros estudios, los menos, que realizan la captura más tarde, concretamente tras 2 segundos (Zhou et al., 2009; Tittler et al., 2011), e incluso otros 3 segundos después del parpadeo (Canan et al., 2014).

En las mediciones estáticas realizadas, un factor importante pero poco analizado en la bibliografía consultada es la demora que se produce entre la ejecución de la orden al instrumento al pulsar el botón de inicio, y la captura efectiva de la imagen. Este tiempo dependerá de factores como la velocidad de reacción, la velocidad de enfoque, y la velocidad de escaneo del dispositivo. En estudios realizados con instrumentos como el RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*), los autores (Czajkowski et al., 2012) estimaron una demora de entre 2 y 3 segundos en realizar una captura de la imagen nítida. Por ello, y a falta de otros datos, es de suponer que la realidad es que en los estudios anteriormente citados, como mínimo, se haya producido una captura real entre 3 y 6 segundos tras el parpadeo.

En lo relativo a la dinámica de los parámetros del menisco, estudios (Parakuru et al., 2007) utilizando un TD-OCT con visión simultánea del menisco superior e inferior y *software* customizado, encontraron que, excepto TMR del menisco superior, los demás parámetros estudiados tanto del menisco superior como del inferior TMH, TMA y TMV, decrecían justo después del parpadeo, y se incrementaban significativamente durante un tiempo prolongado (hasta 19.1 segundos) de apertura. A través de mediciones estáticas, los autores concluyeron que en condiciones de “parpadeo normal” no parecía haber cambios significativos del menisco lagrimal durante el tiempo de apertura del ojo.

En otro trabajo más reciente (Bartuzel, Szczesna-Iskander e Iskander, 2014), donde se analiza de forma dinámica los parámetros del menisco, los autores estudiaron la variación en el tiempo tras el parpadeo de los parámetros del menisco: TMA, TMD y TMH, con un dispositivo FD-OCT Copernicus HR (*Optopol, Poland*), que permite esa posibilidad en modo animación, utilizando el método de extracción de datos propuesto por los autores. Con este método, las diferencias significativas encontradas entre sujetos permiten precisar relativamente las características de cada individuo. Según los autores, en la fase más temprana los cambios están relacionados con movimientos longitudinales del ojo más que a la formación inmediata del menisco tras el parpadeo, que corresponde a la posterior fase de construcción de la película lagrimal. Concluyeron también que la combinación de diferentes factores de interferencia en las medidas, como los movimientos de la cabeza, ojos y párpados, con una simple toma no van a proporcionar

estimaciones fiables de los parámetros del menisco, por lo que es de utilidad la OCT dinámica del menisco lagrimal para calcular estimaciones de medianas estáticas sobre los parámetros TMA, TMD y TMH en un intervalo de unos pocos segundos tras el parpadeo.

También se han realizado estudios dinámicos sobre algunos subtipos de DED. Koh et al. en su estudio publicado en 2010 en el que acoplaban a un Visante OCT (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*) un sensor de frente de onda para, de forma simultánea analizar la dinámica de la TFLL, realizaron un estudio sobre una muestra de pacientes con ojo seco con TBUT inferior a 5 segundos y otra de sujetos sanos. Los autores encontraron que tanto las aberraciones de frente de onda como TMH y TMA se incrementaban a lo largo del tiempo entre parpadeos, y que esa relación estaba más fuertemente correlacionada en el grupo de ojo seco con TBUT reducido. No encontraron incrementos estadísticamente significativos de TMH desde los 0.5 segundos del parpadeo hasta transcurridos 4 segundos, pero el incremento si fue significativo hasta llegar a los 5 segundos, tanto para la muestra de normales ( $p < 0.006$ ) como para la de ojo seco por TBUT reducido ( $p < 0.014$ ). En el caso de TMA, en el grupo de ojos sanos ese incremento significativo no se detectó hasta los 4.5 segundos posteriores al parpadeo, si se comparaba con los 0.5 segundos de la primera medida registrada ( $p < 0.028$ ). En el grupo de los pacientes con ojo seco por TBUT acortado, se encontró un incremento significativo ( $p < 0.006$ ) a partir de los 2.5 segundos.(Koh et al., 2010)

Ante la imposibilidad de utilizar un instrumento que permita mediciones dinámicas, y con el objetivo de que el método que proponemos en esta tesis pueda ser aplicado utilizando cualquier instrumento, puede afirmarse que, tras el análisis de la bibliografía anteriormente citada, la captura efectiva (en función del instrumento utilizado) para diagnosticar y clasificar casos con DED en sus diferentes formas de manera óptima e intercambiable debería producirse en un intervalo entre 2.5 y 4.5 segundos, tal como sugerimos en el protocolo LIMA.

### **5.2.3. Elección del menisco lagrimal inferior frente al superior**

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la diferencia que pudiera presentarse entre la toma de medidas del menisco lagrimal inferior o del superior, ya que puede encontrarse bibliografía que incluye medidas de ambos.

En 2006 Wang et al. sobre una muestra de sujetos sanos con un dispositivo de fabricación casera TD-OCT con visión simultánea a tiempo real de ambos meniscos, encontraron una fuerte

## DISCUSIÓN

correlación entre las medidas de TMH, TMA y TMR del menisco lagrimal superior e inferior. (Wang et al., 2006)

Aunque podemos encontrar autores (Chan, Zhao, Tun y Tong, 2015), que utilizando un dispositivo similar, concluyeron que las medidas del menisco lagrimal inferior de TMH o TMA son mayores a las obtenidas del menisco superior. Otros autores (Shen et al., 2008) estudiaron las dimensiones de ambos meniscos durante un periodo de 24 horas con un instrumento similar a los anteriores, realizando repetidas mediciones en ambos ojos durante el transcurso del día (incluyendo inmediatamente antes de dormir y al despertar). Hallaron una fuerte correlación entre las medidas de TMH, TMA y TMR del menisco superior y el inferior, y encontraron que las dimensiones del menisco inferior eran también significativamente mayores que las del superior ( $p < 0.05$ ) en cada una de las medidas tomadas durante en el transcurso del día. En otros estudios más recientes (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), realizados con SS-OCT con la observación simultánea de ambos meniscos y su medida integrada en el instrumento, tanto para sujetos sanos como para los que presentan DED, encontraron diferencias entre el menisco superior e inferior para TMH Y TMA. En 2009, Shen et al. obtuvieron imágenes a tiempo real con un FD-OCT customizado, tanto del menisco lagrimal superior como del inferior de forma simultánea. Se obtuvieron datos medios de TMH, TMA y TMR sobre una muestra de sujetos sanos y otra de pacientes con ojo seco por deficiencia acuosa. Encontraron que estos parámetros del menisco eran mayores en el menisco inferior ( $p < 0.01$ ) que en el superior en la muestra de sujetos normales, pero no encontraron diferencias significativas entre los pacientes ADDE. Aunque para ambos grupos, los tres parámetros presentaron también una fuerte correlación entre las medidas de ambos meniscos, superior e inferior.(Shen et al., 2009)

A la vista de lo anterior, puede entenderse entonces que es poco trascendente realizar medidas de ambos meniscos por varios motivos. En primer lugar, porque no con todos los instrumentos se puede obtener la medida simultánea del menisco superior e inferior, ni tendría sentido duplicar medidas. Por otro lado, como más adelante veremos, una de las limitaciones de la resolución actual de las AS-OCT es la medida de meniscos muy pequeños, sobre todo en la medida del contorno del área (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), por lo que no resultaría lógico utilizar como referencia la medida del menisco superior. Finalmente, porque tal como otros autores como Zhou et al. en 2009 recomiendan, medir el menisco inferior es más fácil en la práctica, ya que no presenta la interferencia de las pestañas. Es por ello por lo que el protocolo LIMA propone exclusivamente la medida de los parámetros del menisco lagrimal inferior.



#### 5.2.4. Número y ubicación de las capturas tomográficas

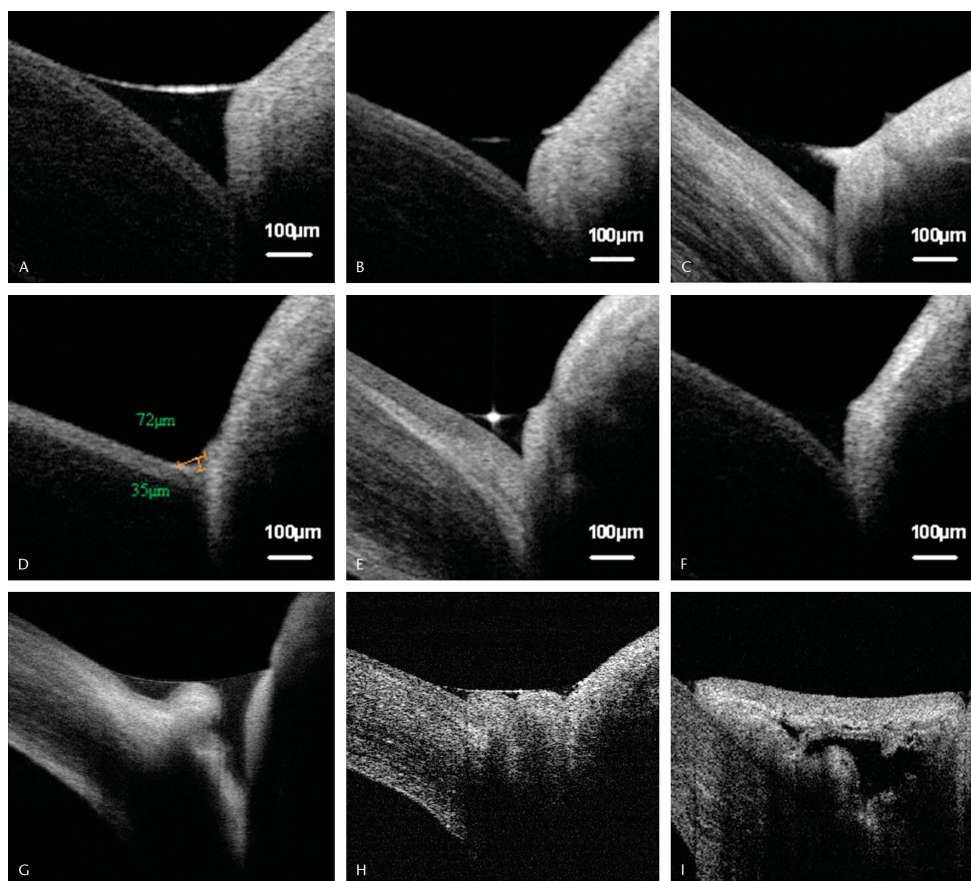
Tittler et al. en 2011, con una FD-OCT consideraron que la variabilidad de las medidas del menisco lagrimal podría ser debida fundamentalmente a las diferencias entre imágenes, más que a las de los observadores (Tittler et al., 2011). Como hemos visto también en el apartado anterior, algunos autores (Bartuzel, Szczesna-Iskander e Iskander, 2014) afirmaban que la combinación de diferentes factores de interferencia en las medidas, como los movimientos de de cabeza, ojos y párpados, con una simple toma no van a proporcionar estimaciones fiables de los parámetros del menisco, por lo que recomendaban estimaciones de medianas estáticas sobre los parámetros TMA, TMD y TMH, incluidos en su estudio.

Dada esta variabilidad, desde el punto de vista de la fiabilidad es importante considerar el número de capturas realizadas sobre un sujeto. Por citar algunos ejemplos, algunos autores (Chen et al., 2010) toman para sus estudios sólo la primera imagen con calidad. Otros (Canan et al., 2014) realizan 2 capturas, escogiendo la mejor. Sin embargo, otros (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011) realizan tres escaneos consecutivos con un intervalo entre ellos de 3-5 segundos, escogiéndose la mejor de las imágenes. Y como ejemplo final, otros autores (Czajkowski et al., 2012) realizan 5 escaneos en la misma zona, con un instrumento que permite a su vez aplicar una media sobre 16 tomografías.

Aunque para cualquier experimento es aconsejable realizar una media/mediana sobre varias mediciones para aumentar la fiabilidad, en la aplicación práctica para la toma de medidas del menisco lagrimal inferior con AS-OCT surgen varios interrogantes. El primero es si, asumiendo esa variabilidad en las medidas, es factible realizarlas aproximadamente en el mismo lugar con el objetivo de obtener una media entre estas medidas, pues es complicado en la práctica centrar el instrumento en una misma zona sin que haya diferencias de 1 mm o más en la posición exacta de las tomografías estáticas obtenidas. La segunda cuestión sería que, suponiendo que la posición ideal sería que se realizaran centrandolo el objetivo del instrumento en el borde del párpado bajo la proyección vertical del centro de la pupila, hasta qué punto sería útil medir con mucha exactitud una zona puntual del menisco, dejando de tener en cuenta las variaciones que podríamos obtener en otras zonas aledañas, sobre todo hasta donde puede influir ese menisco a analizar a lo largo del diámetro corneal sobre el párpado. Y como última cuestión, si sería práctico realizar entonces diferentes tomografías en diferentes zonas de la córnea y repetir varias veces las medidas en cada una de esas zonas para aumentar la fiabilidad.

Ejemplos de imágenes topográficas que podemos encontrar:

## DISCUSIÓN



**Figura 5.3.** Imágenes capturadas por un instrumento FD-OCT. En sujetos normales el borde es claro y continuo (A). En pacientes con ojo seco grado medio, el borde es poco luminoso, estrecho, y algunas veces discontinuo (B), y el área transversal está disminuida (C). En pacientes con ojo seco severo, el área transversal está muy disminuida (D), el borde es corto y leve, y algunas veces con brillos lineales anormales, y/o fluido lagrimal turbio (E), o el borde es impreciso (F). En pacientes con conjuntivochalasia, los pliegues conjuntivales están localizados típicamente en el margen superior del borde del párpado inferior, apreciándose en la imagen tomográfica los pliegues en el interior del menisco lagrimal (G, H, I) (Qiu, Gong, Sun y Jin, 2011).

Aunque no formaba parte de los objetivos de esta disertación, en la toma de datos se ha procedido a realizar una medida central y otras dos aproximadamente 2-3 mm a cada lado con suficiente calidad, para comprobar esta cuestión. Los valores medios del área LIMA del total de los 280 sujetos analizados han sido: medida central =  $13866 \pm 14443 \mu\text{m}^2$ , medida nasal =  $13008 \pm 12322 \mu\text{m}^2$ , medida temporal =  $14697 \pm 13492 \mu\text{m}^2$ , y media de todas las medidas =  $13857 \pm 12524 \mu\text{m}^2$ . Como puede comprobarse, aun siendo el área inferior en la zona nasal y mayor en la zona temporal con respecto a la zona central, el resultado final de la media de todas las zonas medidas es prácticamente coincidente con la medida central. Y esto último ocurre igual con el resto de los parámetros analizados.

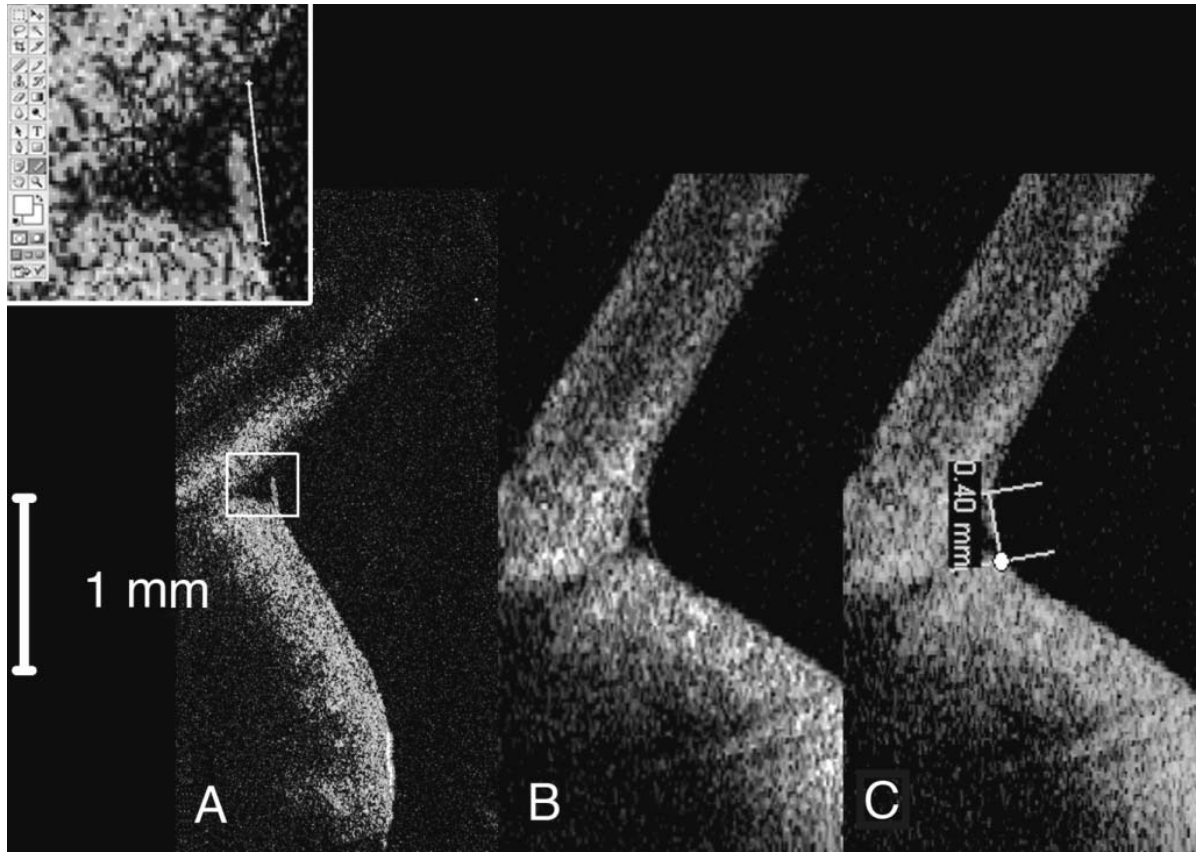
Por esta razón, en el método LIMA se indica tener en cuenta tan sólo la primera captura válida en la zona central, ya que de lo contrario finalmente obtendríamos los mismos resultados, complicando sin sentido práctico el procedimiento del método que proponemos en esta tesis.

### **5.2.5. Modos de captura y herramientas de medición de los instrumentos**

En la bibliografía consultada son numerosos los dispositivos comerciales (a los que habría que añadir los customizados) y sus características técnicas, como lo son también las diferentes posibilidades de medición que permiten.

Por citar algunos ejemplos de la evolución de la tecnología, en instrumentos como el Stratus (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), diseñado inicialmente para el polo posterior, es necesario exportar las imágenes en bruto a una aplicación externa, incluso para medir parámetros lineales como TMH. Usualmente se ha utilizado el software Adobe Photoshop (*Adobe Systems Inc, San Jose, CA*), programa desarrollado por *National Institutes of Health, Bethesda, MD*, o el ImageJ (*Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA*). Esta necesidad de exportar las imágenes implica un procedimiento complicado y lento, lo que no ha ayudado a la aceptación generalizada de esta prueba con estos dispositivos. Aun así, se siguen encontrando artículos más recientes (Chan, Zhao Tun y Tong, 2015) que siguen utilizando este dispositivo TD-OCT, pero que en este caso utilizan una versión más actualizada de Adobe Photoshop, la CS3® para las medias de TMH y TMA con las herramientas de línea, lazo poligonal e histograma.

Aunque la aparición de otros dispositivos comerciales TD-OCT específicos para polo anterior como la Visante OCT (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), que dispone de un software interno de medición, simplifican y agilizan el proceso (Salvini et al., 2009). Por ejemplo, en algunos estudios (Ibrahim et al., 2010) utilizando este instrumento, se focaliza sobre la superficie ocular para obtener un escáner vertical de 10 mm, lo que proporciona una imagen simultánea del menisco superior e inferior. Pero el software incorporado permite medir TMH, y para medir TMA hay que exportar de nuevo las imágenes (Figura 5.4) a un programa externo.



**Figura 5.4.** Imágenes magnificadas a la misma escala del menisco lagrimal inferior del mismo ojo, tomadas con dos dispositivos diferentes. En la imagen A las realizadas con el Stratus (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), y en el encuadre superior izquierdo el detalle del trazado realizado con la herramienta de medida de Adobe Photoshop para medir la altura del menisco. En las imágenes B y C las realizadas con Visante (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*) respectivamente, sin y con el software de medición lineal incorporado al instrumento (Salvini et al., 2009).

En el caso de estudios que utilizan tecnología FD-OCT, podemos encontrar instrumentos que disponen de herramientas de medición incorporadas y otros que no, o que lo hacen exportando a un software customizado. Entre los que disponen de herramientas de medición incorporada más completa encontramos el RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*), pero incluso con este dispositivo se proponen diferentes estrategias para obtener la captura.

Como ejemplos de esto último encontramos algunos trabajos (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011; Qiu et al., 2012), realizados con un dispositivo FD-OCT RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*), en los que se empleó la lente de campo amplio para segmento anterior y el modo de línea simple (longitud del escáner de 3 mm y dirección 90-270 grados), centrado a las 6 en córnea (Figura 5.5).

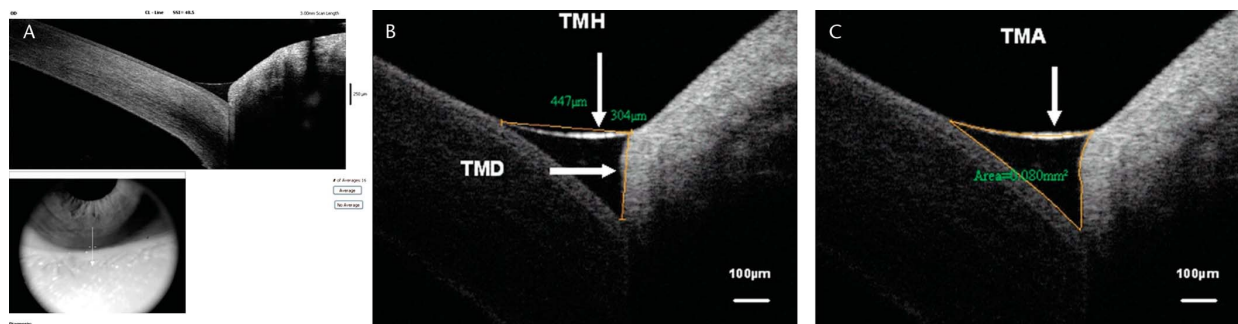


Figura 5.5. Imágenes tomadas con RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*). Imagen A, abajo se muestra la imagen de centrado sobre el ojo y la longitud del B-Scan, y arriba, la tomografía obtenida. Imagen B, se muestra la tomografía ampliada sobre la que se han trazado linealmente, con el *software* integrado del que dispone el instrumento, las medidas de altura (TMH) y profundidad (TMD). Imagen C, sobre la misma tomografía anterior, se muestra la forma en la que manualmente los autores trazan poligonalmente los bordes más externos del menisco, y el área (TMA) que calcula automáticamente (Qiu et al., 2012).

Mientras, otros autores (Czajkowski et al., 2012), con el mismo instrumento anterior, utilizan un lente de campo estrecho para segmento anterior, y seleccionan una longitud de escaneo de 2 mm (4096 A-Scans), también centrado a las 6 en córnea, para realizar sus medidas sobre las tomografías del menisco lagrimal (Figura 5.6.).

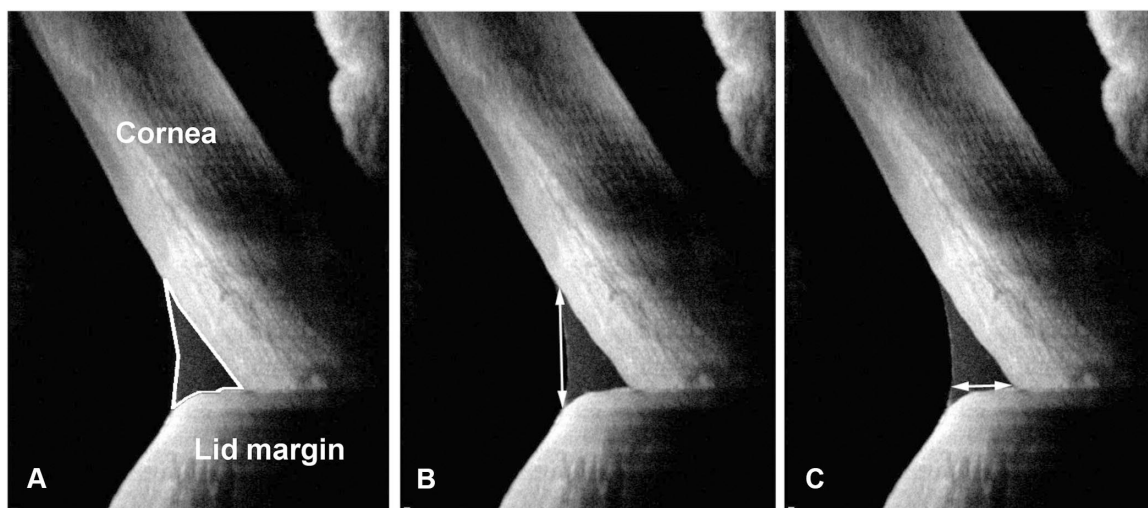


Figura 5.6. Imágenes ampliadas del menisco lagrimal inferior, obtenidas con un FD-OCT espectral RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*), en las que los autores muestran el método de medición sobre la misma tomografía de: imagen A, área (TMA); imagen B, altura (TMH); e imagen C, profundidad (TMD) (Czajkowski et al., 2012).

Bartuzel, Szczesna-Iskander e Iskander afirmaron que la mayoría de los métodos para extraer los parámetros del menisco lagrimal a partir de imágenes OCT requieren la aportación manual de un operador, siendo su estimación subjetiva y muy laboriosa (Bartuzel, Szczesna-Iskander e Iskander, 2014).

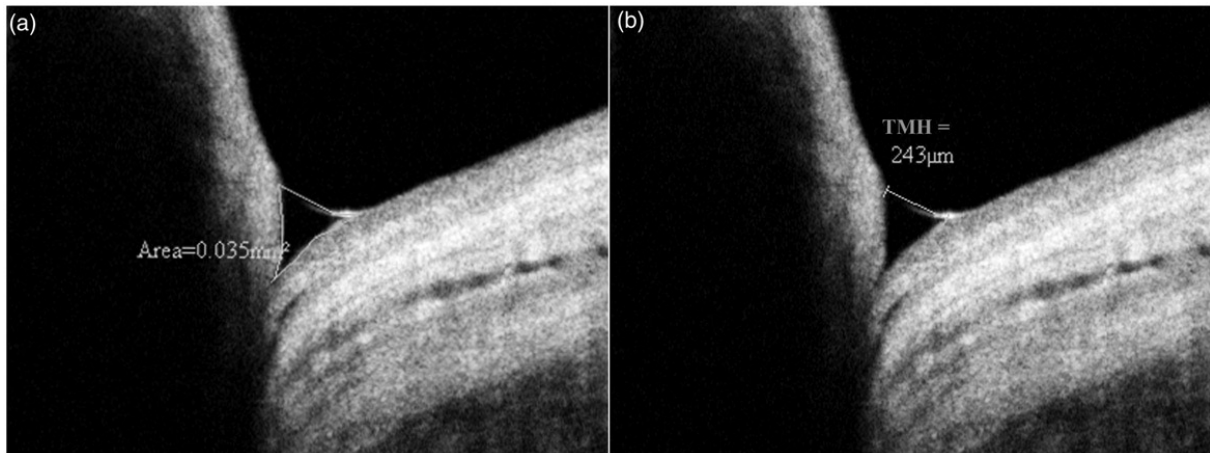
Aunque esta cita anterior no deja de ser cierta, una de las ventajas que introduce el método LIMA es la simplicidad y rapidez con la que pueden realizarse las mediciones con cualquier instrumento, disponga o no de herramientas de medición. Podemos realizar esta afirmación ya que el trazado sobre el menisco lagrimal se realiza aplicando mediciones lineales, ya sea con las propias herramientas de medida del instrumento, o en último extremo exportando estas medidas a un software externo pero de una forma muy simple, lo que agiliza la obtención de resultados.

#### **5.2.6. Trazado de la altura del menisco lagrimal**

Por la naturaleza de este parámetro, la mayoría de los estudios consultados coinciden en la manera en la que debe medirse de forma lineal, sea o no a través de una aplicación externa, aunque la forma de definirla no sea la misma.

Para Arriola-Villalobos et al. en 2015, TMH es definida como la distancia desde la unión entre la córnea y el menisco, hasta la unión de este último con el párpado inferior (Arriola-Villalobos et al., 2015). Qiu et al. en 2012 definieron TMH como la distancia en línea recta entre el extremo superior y el inferior de la línea divisoria que forma la lágrima, tal como se observaba en la imagen B de la Figura 5.5 (Qiu et al., 2012). De forma similar, como vemos en la Figura 5.7 (b) Canan et al. en 2014 consideraron TMH como la distancia entre los puntos en los que el menisco forman intersección con la córnea/esclera, y el párpado (Canan et al., 2014).

El método LIMA, utiliza estos mismos criterios en el cálculo de TMH, pero aporta además la ventaja de obtener el área a la misma vez que se obtienen el resto de los parámetros, sin la necesidad de tener que volver a realizar las mediciones utilizando otras herramientas como el trazado poligonal, tal como podemos observar como ejemplo en el trabajo de Canan et al. (Canan et al., 2014) en la Figura 5.7.

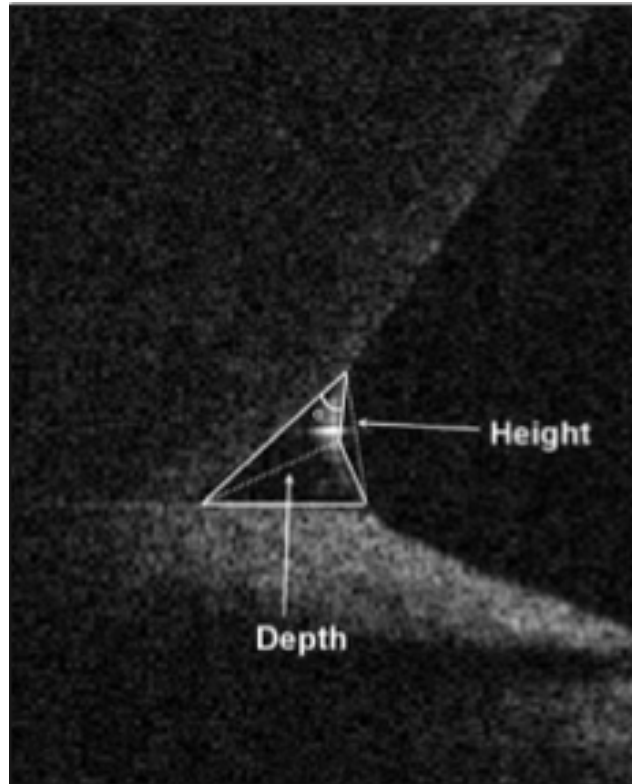


**Figura 5.7.** Imágenes ampliadas obtenidas con RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) y medición con software integrado. (a) Los bordes del menisco son marcados de forma poligonal con la herramienta de medida para el cálculo del área de forma automática en  $\text{mm}^2$ . (b) Trazado lineal de la altura (TMH) y cálculo automático en  $\mu\text{m}$  (Canan et al., 2014).

### 5.2.7. Trazado de la profundidad del menisco lagrimal

El análisis de la bibliografía consultada presenta diferencias importantes según los autores en el criterio de medición de TMD. En la imagen B de la Figura 5.5 veíamos que los autores (Qiu et al., 2012) medían TMD como la distancia vertical entre el punto de intersección de la córnea y el borde del párpado inferior con la línea de altura lagrimal. Sin embargo, en la imagen C de la Figura 5.6. puede observarse que los autores (Czajkowski et al., 2012) trazan una línea desde el mismo punto inicial en la unión de la córnea y el párpado, pero hasta el borde más cercano de la superficie externa del menisco lagrimal. Finalmente, como vemos en la Figura 5.8, otros autores (Zhou et al., 2009) lo hacen hasta la bisectriz que forma la curva de la cara externa del menisco, criterio que más recientemente es empleado también por otros autores (Garaszczuk et al., 2018) de forma similar.





**Figura 5.8.** Imagen recortada y magnificada del menisco lagrimal inferior obtenida con FD-OCT RTVue-100 (*Optovue Inc, Fremont, CA*). Se muestra el método para el trazado lineal de altura, profundidad, y los dos triángulos que utilizan para el cálculo del área. También puede observarse cómo calculan el ángulo  $\alpha$  que forman la córnea y el menisco (Zhou et al., 2009).

La heterogeneidad en la medida de TMD justifica por sí sola la necesidad de un método que estandarice la forma de medir los parámetros del menisco. De lo contrario es evidente que los resultados que se obtengan en estudios que utilicen cualquiera de los métodos anteriormente descritos van a ser muy dispares y por ende no comparables entre sí.

En el método LIMA se ha optado por tomar un criterio muy próximo al que veíamos en primer lugar (Qiu et al., 2012), ejemplo que también es el utilizado mayoritariamente en los artículos consultados, si bien no exactamente de la misma forma.

Señalar la importancia para una correcta medida del área del menisco lagrimal con el método LIMA, que el trazado de TMD (que hemos denominado B) se realice de forma que, partiendo de ese punto de unión de la cara externa del menisco lagrimal con el borde del párpado, su línea englobe de la mejor forma posible (en forma de bisectriz) la media de las posibles irregularidades que puedan detectarse en el borde palpebral hasta la intersección con la superficie corneal. Aunque la mayoría de las veces el borde del párpado es apreciado en las tomografías de



una forma lineal y regular, también es cierto que en algunos casos pueden observarse irregularidades o curvaturas que sin lugar a dudas, aunque en escasa cuantía, alterarían el valor real de la medida final del área.

### **5.2.8. Trazado y cálculo del área de la sección del menisco lagrimal**

El trazado y cálculo de TMA sobre la tomografía obtenida con un instrumento OCT es también diferente, según los autores, en dos aspectos fundamentales que pueden afectar a su cuantificación.

El primero de los aspectos es la distorsión que sufre la imagen por su refracción, que debe ser tomada en consideración, incluso con los instrumentos más modernos actualmente disponibles. Para su corrección, el valor del área obtenido en la imagen original debe ser dividido por 1.343, que es el índice de refracción de una solución salina equilibrada (Fukuda et al., 2013). En algunos artículos (Zhou et al., 2009; Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) se encuentra información sobre su corrección con este factor, pero en muchos otros no se detalla este aspecto en la información que se ha podido consultar, por lo que cabe la posibilidad que no haya sido aplicado en el cálculo matemático de las medidas de TMA.

El otro aspecto a tener en cuenta es el relativo al trazado sobre la imagen obtenida, pues son numerosos los criterios. Ya veíamos en la Figura 5.7 (a) que algunos autores (Canan et al., 2014) realizan una aproximación al contorno de TMA marcando sucesivas líneas rectas a través de la herramienta de trazado poligonal. Otros autores (Qiu et al., 2012) definieron TMA como el área del triángulo formado por el borde del párpado, el borde la córnea y los límites externos del menisco lagrimal, y lo materializan realizando numerosos trazos lineales, que pretenden definir de la forma más detallada los bordes del menisco observados, tal como se observa en la Figura 5.5 (C). Mientras, otros autores simplifican el número de trazos, fundamentalmente del contorno curvo exterior del menisco lagrimal, en mayor (Figura 5.6 (a)), o menor medida (Figura 5.7 (a)). Finalmente, con un concepto diferente, otros autores (Zhou et al., 2009; Tittler et al., 2011), estiman TMA creando un cuadrilátero con líneas rectas que se aproximan a la interfase del menisco lagrimal sobre la superficie corneal y el borde del párpado, así como otras dos líneas rectas que se aproximan a la superficie anterior del menisco, dividiendo así el área del menisco en 2 triángulos a partir de los cuales calcular el área (Figura 5.8).

En el caso del método LIMA, se ha optado por realizar un trazado diferente a todos los consultados para medir TMA, y aunque recoge algunos de los criterios ya propuestos, introduce

novedades en la forma de medir otros parámetros para simplificar su medida, mejorar la precisión en el cálculo del área, y al mismo tiempo obtener otros parámetros del menisco lagrimal hasta ahora no estudiados.

Tal como veíamos en el apartado anterior, TMD (que denominamos B) y la altura del menisco sobre la superficie corneal (que denominamos C), se miden de forma lineal. En el caso de B trazando esa línea de forma que aproximadamente englobe las irregularidades que se observen en la tomografía sobre el borde del párpado. En el caso de C despreciando la influencia en el cálculo del área sobre la curvatura corneal en su trazado, al ser el arco de una esfera relativamente muy grande frente a esta medida.

Por otro lado TMH, que denominamos A en el método propuesto, se realiza de forma lineal, y la influencia de la curvatura del menisco sobre el área se descuenta a través del cálculo del área del segmento circular que obtenemos midiendo la altura sagital del menisco (que denominamos L) sobre A. Esta forma de proceder como hemos visto proporciona además el cálculo de R y  $\vartheta$ .

En el caso del instrumento utilizado en este trabajo, el OCT Maestro (*Topcon, TKY, Japan*) con módulo de polo anterior, todas estas medidas pueden ser realizadas con la herramienta de medición lineal que incorpora el instrumento, como la que dispone la gran mayoría de instrumentos más actuales. En su ausencia, este trazado lineal puede ser realizado fácilmente con programas como ImageJ.

### **5.2.9. Trazado y cálculo del volumen del menisco lagrimal**

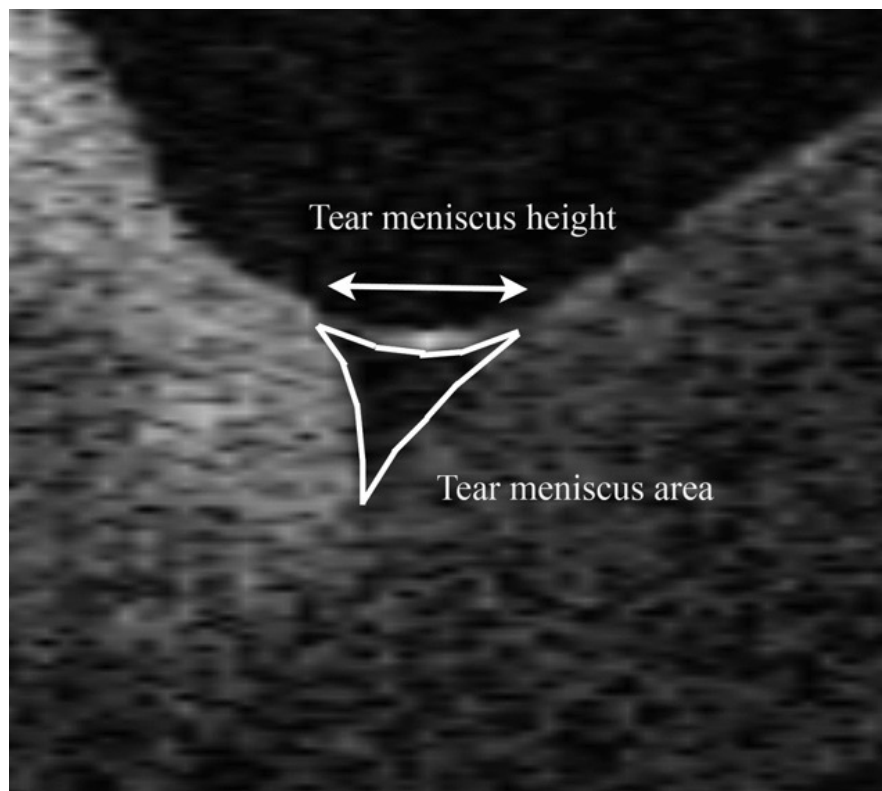
De forma tradicional, TMV se ha obtenido según el criterio matemático propuesto por Tiffany, Todd y Baker en 1998, como el producto de TMA, la longitud del párpado, y el factor 1.294 (para compensar la curvatura del párpado).

Con instrumentos OCT más antiguos, los autores consultados (Palakuru et al., 2007; Palakuru, Wang y Aquavella, 2008; Chen et al., 2010) realizan la estimación de TMA sobre una tomografía centrada en el párpado. Esta forma de proceder da por supuesto que el menisco lagrimal es uniforme a lo largo de todo el párpado, lo que se ha demostrado que no es así (es mayor en el centro y decrece hacia la periferia) (Fukuda et al., 2013).

Pero la diferencia entre los instrumentos utilizados para medir este parámetro puede ser un factor importante, ya que, aunque de momento no existe un método totalmente automatizado, existen instrumentos que sí pueden tener en cuenta este aspecto. Dispositivos comerciales SS-OCT específicos para el polo anterior como el CASIA SS-1000 (*Tomey Corporation, Japan*), en su aplicación al segmento anterior permite entre sus funciones la realización de 16 escaneos

## DISCUSIÓN

verticales sucesivos separados 1 mm, obteniendo un total de 16 imágenes del segmento anterior de 16 mm de anchura y 6 mm de longitud. Una vez ampliada unas 300 veces la imagen original, para medir la altura de los meniscos utiliza la herramienta de medida manual incorporada en el software del instrumento. Para medir el área utiliza la herramienta de medida para describir manualmente la forma del menisco a través de al menos 9 líneas poligonales, cuya área es calculada de forma automática por el programa (Figura 5.9). El volumen del menisco del párpado inferior (el superior no es posible por la interferencia de las pestañas) es calculado gracias a que el programa integra el área delimitada de las 11 imágenes centrales (más allá de 5 mm del centro es complejo medir áreas tan pequeñas), mostrando de forma automática su volumen. De esta forma, algunos autores (Fukuda et al., 2013) obtuvieron una medida media en los 10 mm centrales que confirma una sobreestimación de otros estudios anteriores (Chen et al. 2010) realizados de forma estática. A pesar de las ventajas que ofrece el instrumento, los autores reconocían algunas limitaciones para la medición.



**Figura 5.9.** Imagen magnificada del menisco inferior obtenida con CASIA SS-1000 (*Tomey Corporation, Japan*). La línea horizontal que muestra la altura, y el área, deben ser marcadas de forma manual. El programa incorporado al instrumento calcula el volumen del menisco de forma automática integrando las once secciones del área identificadas en las once imágenes consecutivas (Fukuda et al., 2013).

Con un instrumento SS-OCT similar, otros autores (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) determinaron un TMV inferior medio en sujetos sanos calculado sobre 7 de las imágenes realizadas en los 6 mm centrales, justificando esta reducción de imágenes empleadas a la dificultad de observar meniscos en su totalidad en las muestras de sujetos con meniscos más pequeños, especialmente en la periferia.

Aunque TMV no es un parámetro incluido en este trabajo, es interesante analizar la forma de medirlo. Si bien es el parámetro que mejor puede proporcionar una idea más precisa de la cantidad de reservorio lagrimal acuoso presente en un paciente, la dificultad y laboriosidad de su medición hace que sea muy poco utilizado en la práctica clínica. Incluso con instrumentos más modernos, que como vemos pueden realizar simultáneamente varias tomografías a lo largo del borde palpebral, no parece muy claro que pueda sustituir como método de referencia a otros parámetros, limitándose su uso real a trabajos de investigación.

Lo que sí que parece confirmarse es la variabilidad de los resultados en función de la amplitud de la zona a estudiar sobre el borde del párpado, confirmando así mismo los autores de su análisis que en zonas más periféricas es compleja su observación (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015). Aunque quizás también pueda explicarse porque, como ya hemos indicado en nuestro trabajo, las medidas del menisco que se realizan sobre la zona conjuntival van a ser diferentes a las obtenidas sobre la córnea, y además poco fiables en los casos donde nos encontramos con la presencia de pliegues LIPCOF. Por otro lado, como hemos visto los LIPCOF sólo se circunscriben en los 2/3 de la longitud total del párpado, detrás del menisco lagrimal inferior nasal y temporal, aunque también se ha demostrado que las medidas de la altura central del menisco podrían verse influidas, pudiendo ser más pequeñas de lo estimado (Pult y Riede-Pult, 2015). Aun así, para aumentar la fiabilidad de los resultados se recomienda la medida de los parámetros del menisco perpendicularmente a la pupila, ya que según otros estudios (Banditz, Purslow, Murphy y Pult, 2014), el grado de LIPCOF de la conjuntiva subyacente puede causar un aplanamiento del radio de curvatura del menisco lagrimal, y un aumento de su altura, en la localización nasal y temporal.

#### **5.2.10. Trazado del radio de curvatura de la cara externa del menisco lagrimal**

Son numerosos los estudios que analizan TMH y TMR a través de la meniscometría por reflexión, que ha ido evolucionando técnicamente en su aplicación para el diagnóstico del DED

## DISCUSIÓN

(Yokoi et al., 1999; Yokoi, Bron, Tiffany y Kinoshita, 2000; Oguz, Yokoi y Kinoshita, 2000; Yokoi et al., 2008; Banditz et al., 2014; Banditz, Purslow, Murphy y Pult, 2014). En estos estudios, tanto TMH como TMR se han demostrado correlacionadas y recomendables para la estimación del volumen lagrimal (Wolffsohn et al., 2017). Como ejemplo, autores como Oguz, Yokoi y Kinoshita en 2000 ya encontraron una correlación significativa entre TMR, medida en la zona central del párpado, y otros parámetros del menisco lagrimal como TMH, sobre una muestra de pacientes con ojo seco.

Pero con OCT, es escasa la bibliografía encontrada en su aplicación para la detección del DED. Autores como Shen et al. en 2009 y Wang et al. en 2006 utilizan programas externos de procesado de imagen para el cálculo de TMR con AS-OCT. Para ello, el operador debe identificar tres puntos de la cara externa del menisco lagrimal: intersección con la córnea, intersección con el menisco, y un punto intermedio entre ambos. Con este método de tres puntos, según los autores es posible insertar un círculo que los una, a partir del cual obtener el TMR, tal como puede apreciarse en la Figura 5.10. El trazado de los parámetros del menisco con el software customizado al efecto se muestran ampliadas en sus respectivos recortes de imagen. En éstos pueden observarse los puntos de color rosa marcados en los puntos de intersección del borde del párpado, la córnea y la cara externa del menisco lagrimal; a partir de la unión de sus puntos en línea recta obtienen TMH (en verde), y TMA (en amarillo). Con un punto adicional (en verde) situado aproximadamente en la mitad de la cara externa, logran insertar el círculo que aproxima el radio de curvatura que presenta la cara externa del menisco lagrimal o TMR.

Se han propuesto por tanto con anterioridad a nuestro trabajo métodos matemáticos para el cálculo de TMR con OCT, pero su medida se realiza de forma independiente al resto de parámetros, a diferencia del método LIMA, mucho más simple, en el que se tan solo hay que medir la máxima ságit visible para su cálculo.

Además, aunque como hemos visto anteriormente en otros estudios este parámetro se ha relacionado con la altura del menisco como indicador del volumen lagrimal, no se ha encontrado bibliografía que lo intente relacionar con otros tipos de ojo seco, como también se plantea como novedad en este trabajo.

Por otro lado, es de reseñar la diferencia tan evidente en los resultados de R calculados en este trabajo frente a los reportados por Wang et al. en 2006 aplicando su método (Figura 5.10.). Los

radios de curvatura son mucho más elevados con el método LIMA, ya que estos autores encontraron un valor medio de TMR de  $259.7 \pm 153.0 \mu\text{m}$ .

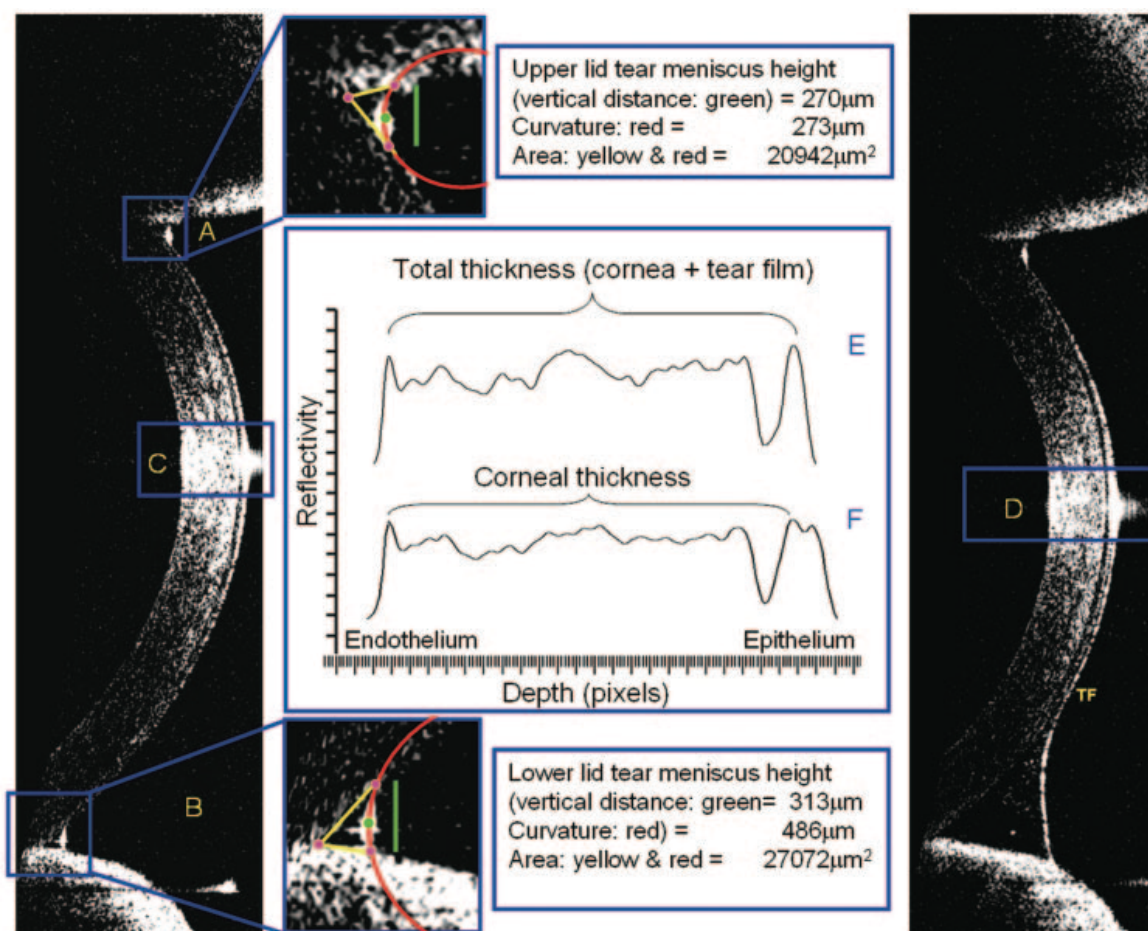


Figura 5.10. Imágenes que representan el procesado de imagen para la medida del grosor de la película lagrimal (C); y tanto del menisco lagrimal superior (A) como del inferior (B): TMH, TMA y TMR. En la imagen derecha se muestra el cambio de los parámetros del menisco tras la instilación de lágrimas artificiales (Refresh Liquigel; Allergan, Irvine, CA); la imagen ampliada de (D) representa el cambio en la señal de reflexión especular medida en píxeles detectada por el instrumento: (E) la señal de base y (F) la posterior a la instilación (Wang et al., 2006).

### 5.2.11. Elección del área frente a otros parámetros del menisco lagrimal

En la bibliografía existente podemos encontrar estudios (Canan et al., 2014; Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) realizados de forma estática, que recomiendan tomar como referencia la medida de TMA frente a otros parámetros del menisco lagrimal para la medida del volumen lagrimal. Estos trabajos demostraron una fuerte correlación estadística entre las medidas de TMH y TMA, recomendando esta última frente a la primera.

## DISCUSIÓN

Aunque también hay otros autores que consideran peor medir el área: encontrando una concordancia peor para TMA que para TMH (Chan, Zhao y Tong, 2015), o determinando para TMA un CV entre visitas también mayor para TMA (Zhou et al., 2009), explicando este CV incrementado en la reproducibilidad entre visitas frente a otros parámetros del menisco a que la medida del área (con la forma particular que tienen de medirla) combina error en la profundidad y en la altura.

Como argumentos en contra de estos hallazgos, en el primero de los estudios habría que considerar que la muestra es pequeña ( $n = 20$ ) para extraer conclusiones definitivas, y en el segundo de los casos los autores estudian la reproducibilidad entre visitas, no la repetibilidad en un corto espacio de tiempo en la toma de medidas.

En el presente trabajo se ha optado como objetivo la medida de la repetibilidad frente a la reproducibilidad precisamente por este hecho, pues esta combinación de errores en los diferentes parámetros necesarios para la medida del área pueden ir en detrimento de la reproducibilidad de este parámetro frente a otros. Tal como se ha expuesto anteriormente, el menisco lagrimal puede presentar medidas dispares en función de diversos factores, tanto intrínsecos del paciente, como extrínsecos (temperatura, climatización, viento, humedad relativa,...), disparidad que sin duda se va a exacerbar si comparamos medidas en diferentes momentos temporales, frente a otros parámetros simples donde no se combinan los errores.

Pero parece que no hay duda, a tenor de otros trabajos (Koh et al., 2010; Bartuzel, Szczesna-Iskander e Iskander, 2014), que estudiaron la variación en el tiempo tras el parpadeo de los parámetros del menisco: TMA, TMD y TMH, tal como concluyeron, que se observa una mayor estabilidad en la dinámica de TMA. Este hecho confirma que, pese a esta misma exacerbación de las variaciones, TMA permanece más estable en medidas de repetibilidad, a diferencia de la reproducibilidad, que van a aportar una mejor cuantificación de las diferencias entre visitas, lo cual a su vez va a permitir valorar de una forma más precisa las diferencias derivadas de, por ejemplo, mínimos cambios derivados de tratamientos para el DED.

Tal como hemos visto anteriormente, los datos tridimensionales de las más modernas SS-OCT pueden proporcionar una más precisa información del menisco lagrimal que los bidimensionales que proporciona TMA, pero la estimación de TMV de forma semiautomática sólo es posible hasta el momento con el CASIA SS-1000 (*Tomey Corporation, Japan*) (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), y su cálculo con otros dispositivos no haría sino incrementar el tiempo de procesado, por lo que no se ha considerado este parámetro en este estudio, pues el método LIMA

pretende ser un referente para unificar criterios, tanto en instrumentos más antiguos como en el desarrollo de los futuros.

### **5.3. Limitación instrumental y metodológica**

Los resultados encontrados en los diferentes estudios citados para la meniscometría realizada con OCT son muy variables. Como también son variables las diferencias de estos estudios con los resultados obtenidos en esta tesis. En ambos casos, estas diferencias van a verse influenciadas por diferentes aspectos.

Por un lado, en el capítulo anterior hemos hecho relación a los referidos al protocolo de medida de los distintos parámetros del menisco lagrimal frente al empleado en el método LIMA, pero por otro lado también son importantes otros factores, como los relacionados con los dispositivos utilizados o el diseño de los estudios, que deben tenerse en cuenta para un correcto análisis de sus limitaciones y del alcance que éstas pueden tener.

#### **5.3.1. Instrumental**

Hay tres aspectos importantes a tener en cuenta en el diseño de la OCT que determinan sus características técnicas: la longitud de onda de su fuente de iluminación, la velocidad de escaneo, y la geometría de escaneo utilizada, características que en parte pueden justificar las diferencias observadas en los resultados de nuestro estudio frente a otros autores que han utilizado dispositivos diferentes.

La diferencia entre utilizar una longitud de onda en el entorno de 1310 nm o de 830 nm es que en el primer caso la transmitancia de los medios oculares es reducida, por lo que puede utilizarse una iluminación más alta que en el segundo gracias a su menor absorción (Radhakrishnan et al., 2001). Por tanto, la longitud de onda de 830 nm proporciona una mayor resolución axial, pero la profundidad de la imagen es más limitada. Evidentemente este es un aspecto importante en la medida de estructuras más internas como la retina, donde la longitud de onda de 1310 nm permite llegar con muy buena resolución a capas como la coroides. Pero el caso de la medida del menisco lagrimal, la profundidad de la imagen será un aspecto poco determinante, ya que en las OCT que permiten visualizar el polo anterior el objetivo a analizar es más superficial y con una profundidad muy reducida. Sin embargo, la mayor resolución axial que producen los instrumentos que utilizan una longitud de onda menor sí que va a ser importante, ya que sin duda la resolución axial más elevada va a proporcionar imágenes de más calidad de la cara externa del



menisco lagrimal, lo que va a repercutir en mediciones más precisas, aunque obviamente es también importante tener en cuenta otros aspectos para la calidad final de las tomografías, como la velocidad de escaneo.

En lo referente a la velocidad de escaneo, autores como Zhou et al. en 2009 aclaran en su trabajo que la tecnología FD-OCT presenta mucha mayor velocidad y sensibilidad que la más antigua TD-OCT. Como ejemplo citaban (Zhou et al., 2009) que el instrumento FD-OCT RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) obtiene 26.000 escaneos axiales por segundo, lo que implica que frente a las TD-OCT, es 260 veces más rápido que el OCT1 (*Humphrey Instruments Inc., Dublin, CA*), 13 veces más que el Visante (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*), y 6,5 veces más rápido que el prototipo utilizado por Wang et al. en 2006. Esto supone que mientras el RTVue adquiere una imagen de 1.000 líneas en 0,04 segundos, la OCT1 realiza 100 en 1 segundo, y el Visante 512 en 0,26 segundos. Por otro lado, dispositivos como el SS-100 son también bastante rápidos en su adaptación al segmento anterior, realizando 16 tomografías de 512 *A-Scans* en 0.3 segundos, aunque separadas 1 mm entre ellas (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), lo que supone realizar cada una en 0.019 segundos. Por consiguiente, atendiendo exclusivamente a los instrumentos analizados y sin perjuicio de las características técnicas que pudieran presentar otros, podemos afirmar que el efecto generado por el movimiento ocular en las medidas debería ser mucho menor con los instrumentos FD-OCT, seguidos de cerca por los SS-OCT, y finalmente los TD-OCT. En este mismo orden podemos también clasificar de modo general estas tres tecnologías en lo relativo a su resolución axial, y por tanto, dando por hecha una buena inmovilización del paciente, la calidad final de la imagen obtenida.

En lo referente a la experiencia obtenida en este trabajo, se ha comprobado que es de suma importancia que el paciente esté en una posición cómoda, con la cabeza bien apoyada en la mentonera y el frontal del instrumento, y con la mirada fija en el objetivo de fijación. Cualquier movimiento, por pequeño que sea, va a producir tomografías con doble imagen o con una resolución muy reducida, lo que va a obligar a repetir la prueba. En nuestro caso hemos trabajado con un instrumento con una velocidad de escaneo relativamente alta, y precisamente por ello podemos afirmar que la mala calidad de la imagen va a ser proporcional a la velocidad del escaneo del dispositivo, y que la inmovilización del objetivo debe ser esencial para obtener una mínima calidad de las tomografías, especialmente en los instrumentos más antiguos.

En cuanto a la geometría del escaneo, podemos encontrar 3 posibilidades (Huang, 2013): La de sector divergente, obtenida cuando se examina la córnea con un escáner retinal. Este modo es excelente para la visualización de estructuras más profundas como el ángulo irido-corneal o la

## DISCUSIÓN

esclera, pero produce un pobre contraste en estructuras como la córnea, especialmente al ir aumentando el ángulo de incidencia en las zonas más periféricas. En la geometría concéntrica o de arco, la fuente de luz puede ser conducida de forma transversal manteniendo el ángulo de incidencia más próximo a la perpendicular, lo que produce fuertes reflexiones uniformes de las superficies corneales anterior y posterior, pero también de las láminas de colágeno del estroma. Esto último hace que se reduzca la visualización de otros detalles de estrías o interfaces de *flaps* posteriores a cirugía refractiva LASIK. Finalmente, la geometría telecéntrica o rectangular de escaneo produce la menor distorsión de la imagen con un contraste útil de la córnea, con una precisa medida central, y manteniendo una buena visión de detalles en el estroma de la periferia media.

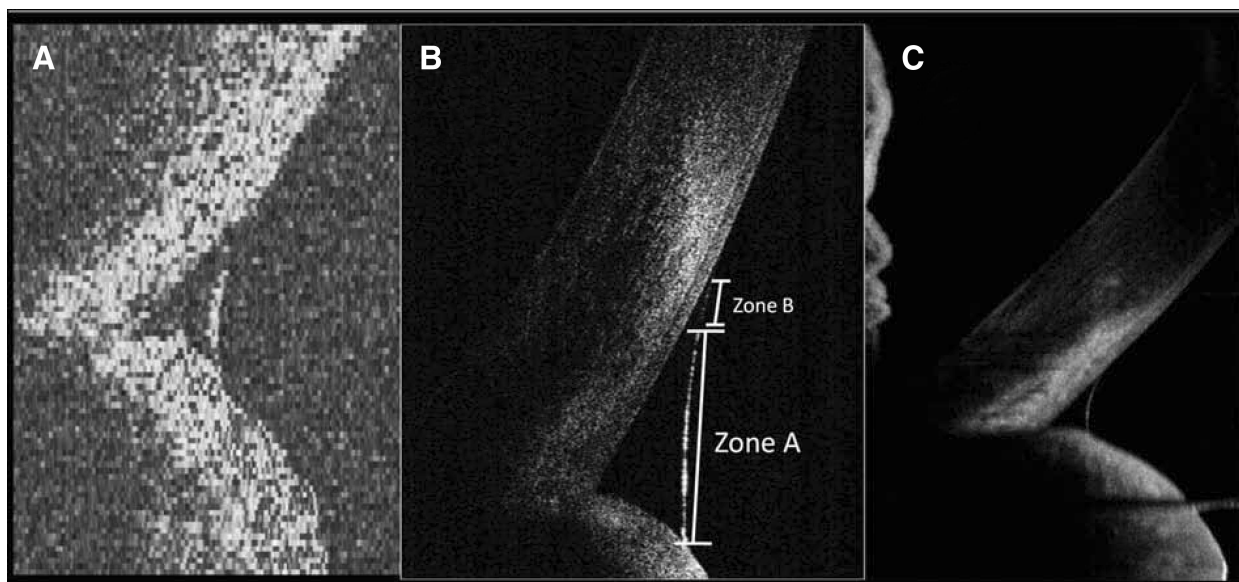
Tal como se desarrolla a continuación, podemos encontrar diversos ejemplos de estudios que comparan las diferencias entre las medidas obtenidas con distintos instrumentos, lo que proporciona una idea del alcance de lo expuesto anteriormente. Para TMH y TMA del menisco superior e inferior, Chan, Zhao y Tong en 2015, para una muestra de sujetos sanos encontraron una mayor repetibilidad intra-observador, inter-observador y entre instrumentos, en el caso del Cirrus HD- OCT (*Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA*) de tecnología FD-OCT, que en el caso del Visante (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*) (TD-OCT). Aunque en ambos casos las medidas fueron menores en el Cirrus HD- OCT, no hubo diferencias significativas en el TMH inferior con el Visante ( $p > 0.05$ ), mientras en el caso concreto de TMA del menisco inferior se llegaron a encontrar diferencias significativas entre los instrumentos ( $p = 0.0002$ ), con una media de  $35505 \pm 10997 \mu\text{m}^2$  con TD-OCT, y  $25283 \pm 11144 \mu\text{m}^2$  con FD-OCT, lo que supone que las medidas obtenidas con ambos dispositivos no son intercambiables. (Chan, Zhao y Tong, 2015)

En 2009, Savini et al. para una muestra de sujetos normales midieron TMH con Stratus (*Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA*) y Visante, concluyendo que sus medidas no son intercambiables. En el caso de la Visante OCT el instrumento presenta un software integrado de medición, pero en el caso de la Stratus es necesario exportar la imagen a un software externo, expresando los autores (Savini et al., 2009) como uno de los motivos atribuibles en las diferencias encontradas a la distorsión que se produce en la imagen que proporciona el Stratus, concebido inicialmente para el polo posterior.

Keech, Flanagan, Simpson y Jones, en su estudio publicado en 2009 compararon en un grupo de sujetos normales TMH en las capturas realizadas con un TD-OCT, el OCT2 (*Humphrey Instruments Inc., Dublin, CA*), y con un FD-OCT, el RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*). En este último además, se tomaron imágenes usando dos lentes de segmento anterior diferentes,

## DISCUSIÓN

el módulo corto (CAM-S) y el largo (CAM-L). Con el primer accesorio se obtiene una visión parcial con alta magnificación, mientras el segundo proporciona una campo de visión muy amplio pero con menor resolución (Figura 5.11).



**Figura 5.11.** Imágenes tomográficas ampliadas de TMH del mismo ojo, aunque no la misma escala, utilizando la OCT2 (*Humphrey Instruments Inc., Dublin, CA*) (A), RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) CAM-S (B), y RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) CAM-L (C) (Keech, Flanagan, Simpson y Jones, 2009).

Los autores (Keech, Flanagan, Simpson y Jones, 2009) encontraron diferencias significativas en las medidas de TMH entre instrumentos, mayores en las del RTVue-100 (*Optovue, Inc., Fremont, CA*) que en las del OCT2 (*Humphrey Instruments Inc., Dublin, CA*), aunque no encontraron diferencias entre las del RTVue utilizando los dos módulos adaptadores. Justificaron como unos de los motivos de estas diferencias entre dispositivos a dos aspectos fundamentales, relacionados con los complejos algoritmos que representan físicamente la imagen bidimensional a partir de una reconstrucción tridimensional realizada por un dispositivo ideado inicialmente para polo anterior, frente a otro diseñado para el polo posterior. El primero de ellos es el factor de forma, derivado del pandeo y el curvado de la imagen que se produce por una falta de perpendicularidad en la luz incidente cuando se utiliza una longitud de escaneo reducida (3 mm); y el segundo, el factor de distancia, derivado de los diferentes índices de refracción de los tejidos objetivo, que deben ser tenidos en cuenta a la hora de realizar mediciones físicas correctas. En el caso del OCT2 las imágenes se trasladan a un programa de

procesado externo de imagen, y de alguna forma, los autores sospechan que la RTVue-100 debe poseer uno o ambos de estos factores de corrección incorporados a su software, que de alguna forma incrementa los valores de TMH en la imagen obtenida y su posterior medición integrada, lo que puede explicar las diferencias. Pero por otro lado, también postulan que la mayor medida de TMH obtenida con FD-OCT puede ser debida a la mayor resolución de este instrumento frente al TD-OCT. Como puede verse en la Figura 5.11 A obtenida con el TD-OCT, la línea desalineada de grandes píxeles que forma la cara externa del menisco lagrimal dificulta la correcta interpretación para el examinador de la posición de contacto con la córnea. Sin embargo, en la Figura 5.11 B se observa el “fino tallo” de la sección superior del menisco lagrimal (Zona B), que incrementa TMH sobre la parte visible con FD-OCT (Zona A).

### 5.3.2. Metodológica

En el caso de los estudios que analizan casos de DED, los resultados de la bibliografía consultada pueden verse influenciados, tanto por los criterios de diagnóstico (sanos-DED) como por los de clasificación (espectro EDE-ADDE) empleados para diferenciar los grupos de muestras, lo que evidentemente va a justificar en parte las posibles diferencias en los resultados obtenidos frente a nuestro trabajo. En esta sección vamos a analizar las diferencias encontradas en la metodología empleada con respecto a la bibliografía anterior, justificando las pruebas y los puntos de corte que se han aplicado en este trabajo para el diagnóstico y clasificación de la muestra 5, y analizando de forma crítica las propias limitaciones metodológicas de este trabajo.

Comenzar aclarando que, como ya veíamos en el capítulo de metodología, como paso previo se deben descartar que los síntomas y signos de DED puedan deberse a otras OSD, ya que la sequedad y la inflamación de la superficie ocular producidas por diferentes afecciones pueden provocar alteraciones en la sintomatología, y la producción lagrimal y el ratio de parpadeo basal o reflejo, que es preciso conocer para entender los cambios que se producen en estos pacientes. En las enfermedades de la superficie ocular, el secado o la inflamación ocular de diversas etiologías provocan aumentos o disminuciones variables de la actividad de los impulsos nerviosos en nociceptores de tipo polimodal y mecánico, así como en termorreceptores fríos de los tipos de alta actividad de fondo y umbral bajo. Juntos, estos cambios provocan sensaciones conscientes de distinta calidad, así como cambios en el flujo lagrimal y en el parpadeo espontáneo y reflejo. (Craig et al., 2017 B)

## DISCUSIÓN

Es por ello muy importante un adecuado cribado previo de estas OSDs y la aplicación de criterios de selección de muestras similares a nuestro estudio, ya que de lo contrario los resultados podrían verse influenciados y por tanto no ser comparables. En muchos de los estudios referidos en este trabajo, sin embargo, o no se especifican los criterios de cribado y selección, o no coinciden con los de este trabajo.

Por otro lado, y entrando ya en la metodología aplicada, a diferencia de nuestro trabajo, en muchos de los estudios consultados los resultados muestran las características de grupos con criterios de identificación de DED muy amplios, donde cabe la posibilidad de encontrar signos mezclados tanto de casos de EDE como de ADDE. Por poner algunos ejemplos, en el grupo de pacientes considerados como DED incluidos en algunos estudios (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011) debían padecer, o (1) y (2), o (1) y (3) de los siguientes criterios: (1). Cualquiera de los siguientes síntomas: ojos ásperos o sensación de arenilla, picor, quemazón, enrojecimiento, o fotosensibilidad; (2). BUT menor o igual a 5 segundos y Test de Shirmer I sin anestesia menor a 10 mm/5min; (3). BUT menor a 10 segundos y Test de Shirmer menor o igual a 5 mm/5min. Y dentro de los criterios de exclusión era el de padecer SS. Y otros estudios (Chen et al., 2010; Ibrahim et al., 2010) utilizan el criterio descrito por *Japanese Dry Eye Society*, que requiere tres condiciones: presencia de síntoma subjetivos, test de Schirmer menor a 5 mm o TBUT menor a 5 segundos, y evidencia de daño en la superficie corneal mediante tinción con fluoresceína o rosa de Bengala > 3.

Otros estudios sin embargo, se centran en identificar subtipos específicos de DED. Por ejemplo, (Tung, Perin, Gumus y Pfugfelder, 2014) según el criterio de clasificación del *American College of Rheumatology* (Shiboski et al., 2012) para el síndrome de Sjögren, y distinguiendo de otras formas de ojo seco por deficiencia acuosa, o por deficiencia lipídica. Mientras otros autores (Shen et al., 2009), para diagnosticar a un grupo de ojo seco acuodeficiente utilizaron el criterio de que el paciente presentara, además de uno o más de los síntomas primarios de ojo seco del test McMonnies al menos de forma ocasional, un resultado bilateral en el test de Schirmer de 5 mm o menor, así como una TMH inferior a 0.1 mm a través de biomicroscopía. Y otros (Czajkowski et al., 2012) clasificaron como DED a aquellos sujetos que presentaran una puntuación mayor a 10.4 en el test OSDI, una alta deficiencia acuosa (Schirmer menor a 5 mm) y TBUT inferior a 10 segundos.

En la muestra 5 del presente trabajo se ha aplicado el orden de las pruebas y empleado los criterios establecidos por el subcomité de metodología de diagnóstico de ojo seco del TFOS

## DISCUSIÓN

DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), que veíamos en la Figura 1.13. Se ha comenzado con la diferenciación entre sujetos sanos o con sospecha de DED, estableciendo los criterios de selección en función de la presencia de síntomas específicos y la integridad del epitelio ocular, que en este último caso este subcomité concreta a través de preferentemente pruebas como el tiempo de ruptura lagrimal no invasivo, la osmolaridad lagrimal y las tinciones de la superficie ocular. A estos dos criterios básicos, en nuestro trabajo se ha añadido la necesidad de un tercero, a través del análisis de la cantidad o la calidad lagrimal. Por otro lado, para averiguar su subtipo predominante dentro del espectro EDE-ADDE, tal como indica el informe DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), las pruebas adicionales realizadas se han de establecer con el objetivo de conocer la estabilidad lagrimal, la dinámica-grosor de la capa lipídica, el volumen lagrimal, y/o la presencia de MGD.

Pero por las limitaciones instrumentales que ya comentábamos anteriormente en el capítulo de metodología, en algunos casos no se han empleado las mismas pruebas recomendadas, pero se ha procurado establecer otras pruebas alternativas que, aplicadas en serie o en paralelo, reforzaran el diagnóstico y la diferenciación de los dos formas de DED primario, así como otras pruebas adicionales que permitan averiguar su subtipo predominante dentro del espectro EDE-ADDE, pruebas que pasamos a analizar de forma individualizada.

### Los test de sintomatología

De entre los test de sintomatología que ya enumeramos, tal como ya explicábamos, se ha escogido el OSDI por ser el recomendado por el TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), ya que está ampliamente contrastado con otros de los test existentes, además de ser breve y haberse demostrado reproducible. A partir de una puntuación  $\geq 13\%$  se considera la existencia de síntomas de DED, presentando una sensibilidad y especificidad es de 0,8 para el diagnóstico del ojo seco, y tiene una alta fiabilidad, con valor del coeficiente alfa de 0,92 (Schiffman et al., 2000). Además, en algunos estudios (Nichols, Mitchell y Zadnik, 2004), aunque no con el test OSDI, se ha demostrado que la repetibilidad (en un espacio de 3 semanas) de sensación de sequedad ocular y sensación de arenilla fue de moderada a alta para grupos de sequedad ocular media y alta.

Según algunos estudios (Begley et al., 2003), los síntomas mantienen una moderada-alta correlación con el estado clínico global de severidad, y una alta correlación con la propia sensación de severidad del paciente, siendo ésta incluso mayor que la de los signos, a la que le asigna una correlación más baja. Aunque los síntomas de malestar en la superficie ocular y los

signos tradicionales de la DED no mantienen una relación lineal, pudiendo variar en función de su etiología, estadio y del sujeto, según los autores es importante cuantificar sus resultados, como así se recomienda en el TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017) y realizamos en esta tesis. En el caso de la MGD por ejemplo, puede presentarse con o sin la presencia de sintomatología, aunque hasta la fecha, los cuestionarios existentes no tienen en cuenta diferencias entre signos específicos de EDE frente a ADDE, lo que es probablemente debido a que es difícil encontrar fenotipos “puros” de MGD. Parece que algunos rasgos sintomáticos que caracterizan la MGD se centran en los márgenes del párpado, e incluyen hábitos personales relacionados con condiciones como el frotamiento del párpado para aliviar el picor y la irritación, así como rasgos morfológicos en los que el paciente refiere que ha observado cambios en el borde del párpado en ausencia de costras o escamas (Tomlinson et al., 2011). Como otras enfermedades, la MGD suele pasar por una forma subclínica, la más común, en el que el paciente no presenta síntomas, ni tampoco se observan otras alteraciones del borde del párpado que puedan ser consideradas como signos de blefaritis (Tomlinson et al., 2011). Aun conociendo esta limitación en la sintomatología de los casos que pudiéramos clasificar como EDE, hay que aclarar que en nuestro trabajo se ha pretendido recopilar sujetos en estado más avanzado a este último descrito.

### Tiempo de ruptura lagrimal

Con la utilización o no de fluoresceína, el tiempo de ruptura lagrimal es una prueba que ha sido ampliamente estudiada en su relación con los parámetros del menisco lagrimal, aunque con resultados algunas veces contradictorios. Algunos autores (Fukuda et al., 2013), para TMH, TMA y TMV, no encontraron relación con el TBUT, sin embargo, para estos mismos parámetros, otros autores (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) encontraron correlación estadística significativa, tanto en un grupo de pacientes sanos como en otro grupo con DED. Por otro lado, para casos con sequedad ocular media y alta se obtuvieron resultados para el FBUT que demostraban una repetibilidad considerable en un espacio de 3 semanas (Nichols, Mitchell y Zadnik, 2004).

Como ya vimos en la sección 1.3.3.3. el tiempo de ruptura lagrimal es el método más ampliamente utilizado y recomendado (Wolffsohn et al., 2017) para valorar la estabilidad de la película lagrimal, y tal como recomienda el TFOS DEWS II (Figura 1.13), uno de los tres signos de referencia del DED. Tal como también recomienda este organismo, hubiese sido preferible realizarlo de forma no invasiva, ya que la fluoresceína reduce la estabilidad de la película

## DISCUSIÓN

lagrimal, pero no se disponía de la instrumentación necesaria para ello, por lo que en este trabajo se ha empleado instilando fluoresceína (FBUT). Sí que, siguiendo con las recomendaciones, se ha estandarizando la metodología de la prueba en la medida de lo posible, y se ha aprovechado la tinción para realizar de forma simultánea la también recomendada valoración de la superficie ocular (que más adelante desarrollamos ampliamente) como prueba también de referencia del DED.

A pesar de ser una prueba esencial para el diagnóstico del DED, en gran parte de la bibliografía consultada se aplica sin distinción del subtipo específico de la enfermedad, lo que podría explicar los resultados contradictorios que reflejan los trabajos. No es exactamente igual la inestabilidad lagrimal que se produce en pacientes con ADDE que en los EDE, ya que obviamente son etiologías diferentes que van influir también de forma diferente en los resultados. Es por ello que a diferencia de lo recomendado por el TFOS DEWS II (Figura 1.13) en nuestro trabajo se ha optado por realizar un cribado de los pacientes que se consideran DED en función de un FBUT reducido, y/o que presentaran un volumen lagrimal reducido, para de esta forma aumentar la fiabilidad del diagnóstico posterior, incluyendo sujetos sospechosos de ADDE o de EDE de una forma más restrictiva. De esta forma, el caso de la FBUT el valor de corte de referencia tradicionalmente aceptado para el diagnóstico de la DED es que sea inferior a 10 segundos (Lemp y Hamill, 1973; Wolffsohn et al., 2017), y como ya se expuso en el capítulo de metodología de este trabajo, se han considerado valores de corte de 5 segundos o menores para la diferenciación de los sujetos sanos de aquellos sospechosos de EDE (Albelson et al., 2002), siendo la sensibilidad de esta prueba de un 72,2%, y la especificidad del 61,6% (Pflugfelder et al., 1998).

### Osmolaridad

La medida de la osmolaridad lagrimal es considerada como otra de las pruebas referente en el diagnóstico del DED, lo que se refleja en la definición de DED que ya vimos que se recoge en el informe TFOS DEWS II.

La hiperosmolaridad lagrimal inducida por la evaporación constituye la principal característica de la enfermedad, y puede ser debida a un descenso de la secreción lagrimal en condiciones de evaporación normal del ojo, o a una evaporación excesiva de la película lagrimal en presencia de una glándula lagrimal que funciona correctamente (Bron et al., 2017). Dado que todas las formas de hiperosmolaridad dependen de la evaporación, puede considerarse pues en este sentido que



todas las formas de ojo seco son realmente evaporativas, por lo que habría que distinguir a la segunda realmente como un estado hiperevaporativo (Craig et al., 2017 B).

Pero en la actualidad, los sistemas de medidas de la osmolaridad más extendidos como el TearLab Osmolarity System (*OcuSense, CA*) son caros, tanto el instrumento de medición en sí como los consumibles que precisa para la medida. Aunque hubiese sido lo idóneo, debido al gran número de muestras a realizar en este trabajo se tuvo que descartar la utilización de esta prueba. Realmente no hay una prueba alternativa a la medida de la osmolaridad lagrimal, por lo que en nuestra tesis se ha intentado suplirla con otra serie de pruebas que, tomadas de otros trabajos de referencia y reforzándolas en la medida de lo posible, permitiesen el mejor diagnóstico del DED, ya que en cualquier caso el incremento de la osmolaridad lagrimal puede ser un referente en la detección del DED, pero tampoco es una prueba que por sí sola pueda indicarnos su etiología.

### Tinciones en la superficie ocular

Como ya veíamos en el caso del tiempo de ruptura lagrimal, la valoración de tinciones de la superficie ocular, siendo considerada otra de las pruebas referente en el diagnóstico del DED, presenta también resultados controvertidos en relación con las medidas del menisco con OCT para la detección del DED (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015). Algunos autores (Qiu, Gong, Sun y Jin, 2011) no encontraron diferencias significativas en TMH, TMA o TMD con respecto a ésta entre un grupo control y otro con DED, mientras otros autores (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) sí encontraron diferencias significativas en TMH, TMA y TMV.

Por otro lado, aunque la observación de los teñidos en córnea y conjuntiva sí que son considerados como un importante aspecto en el análisis clínico de la DED severa (Wolffsohn et al., 2017), ya que en el grado medio y moderado de la DED se ha encontrado una pobre correlación con la severidad de la enfermedad (Tomlinson et al., 2006), también podemos citar estudios como el de Nichols, Mitchell y Zadnik en 2004 en el que se muestra una repetibilidad pobre (en un espacio de 3 semanas) en estos casos medios y avanzados de la enfermedad.

Por sus características, la tinción con fluoresceína está recomendada para la observación de los teñidos corneales, mientras el rosa de bengala y el verde de lisamina lo son para los conjuntivales. Aunque de entre estos dos últimos, el verde de lisamina ha reemplazado ampliamente por sus cualidades, principalmente su baja toxicidad, al rosa de bengala (Lemp et al., 2011), por lo que en la actualidad está recomendada (Wolffsohn et al., 2017) por su eficacia

## DISCUSIÓN

(Toda y Tsubota, 1993) la doble tinción con fluoresceína y verde de lisamina (Yoon, Im, Kim, y You, 2011). A pesar de ello, en el presente trabajo se ha creído conveniente la valoración de las tinciones de la superficie ocular exclusivamente con fluoresceína fundamentalmente por dos motivos: aprovechar la tinción para el análisis del FBUT simplificando un ya de por sí extenso trabajo en la toma de muestras, y alterar lo mínimo posible la superficie ocular y producción lagrimal en resto de las pruebas de la secuencia de test diseñados.

Actualmente existen diferentes métodos para gradar los teñidos de la superficie ocular y monitorizar su evolución, entre los que por orden cronológico destacan: el sistema van Bijsterveld (van Bijsterveld, 1969), las directrices del *National Eye Institute/Industry Workshop* (NEII) (Lemp, 1995), el esquema del *Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus* (CLEK) (Barr et al., 1999), el índice combinado área-densidad (Miyata, Amano, Sawa y Nishida, 2003), el sistema Oxford (Bron, Evans y Smith, 2003), y el *Ocular staining score*, (Whitcher et al., 2009). A diferencia de otros trabajos citados, en esta tesis la observación de las tinciones se ha realizado a través del esquema Oxford, ya que podemos considerarlo el más moderno de los sistemas para gradar teñidos utilizando sólo fluoresceína, probablemente uno de los más empleados en los trabajos actuales de investigación gracias a la escala logarítmica que emplea, y además fácil e intuitivo en su aplicación. Dentro de su rango total de puntuación (entre 0 y 15), en nuestro trabajo se ha utilizado el criterio recomendado por la MGDW (Tomlinson et al., 2011), que consiste en un doble punto de corte aplicado en paralelo: o una puntuación mayor a 3 en alguna de las zonas, o una puntuación total mayor o igual a 6 como suma de las tres zonas analizadas.

### Pliegues LIPCOF

Aunque en principio no es una prueba recomendada de forma expresa en el informe TFOS DEWS II (Wolffsohn et al., 2017) para la detección del DED, como hemos visto anteriormente en esta tesis los pliegues LIPCOF se han demostrado como indicadores fisiológicos de ojo seco, por lo que para reforzar el diagnóstico en los casos sospechosos de DED de la muestra 5 de este trabajo se ha aplicado en serie a las tinciones de la superficie ocular, como otra forma de valorar la integridad de la superficie ocular.

Se han establecido diferentes métodos de gradación, tanto para la conjuntivochalasis (Meller y Tseng, 1988), como para los LIPCOF. En lo que nos concierne de estos últimos, algunos autores (Hoh, Schirra, Kienecker y Ruprecht, 1995) han basado el grado de severidad en función de la

altura de los pliegues en la zona temporal, aunque se han obtenidos mejores resultados de sensibilidad y especificidad en otros estudios (Berry, Pult, Purslow y Murphy, 2008), donde se valora la suma del número de pliegues temporales y nasales encontrados. Es por ello que en nuestro trabajo, siguiendo este criterio de Berry, Pult, Purslow y Murphy en 2008 adaptado al uso de AS-OCT, se ha empleado un punto de corte  $LIPCOF \geq 2$ .

### Volumen lagrimal

Tradicionalmente, el método de referencia usado para medir la cantidad de lágrima de un paciente sospechoso de DED ha sido el test de Schirmer. Aunque hay que tener en cuenta que este test tiene la desventaja de inducir lagrimeo reflejo por la tira de papel utilizada, y aunque el uso de anestesia reduce esta secreción, no la elimina por completo, lo que unido a otros factores hace que tengan pobres resultados de sensibilidad y especificidad. (Zhou et al., 2009) Se han propuesto (Wolffsohn et al., 2017) diferentes valores de corte para el Schirmer I, que van desde  $\leq 5$  mm/5 minutos a  $\leq 10$  mm/5 minutos, con variados rangos de sensibilidades y especificidades. Zhou et al. en 2009 señalan, además de la secreción artificial que produce la tira de papel, limitaciones como la sensibilidad a la posición de ésta en el párpado, el secado completo del fórnix, la influencia de la evaporación, la temperatura o la humedad, lo que conlleva a que presente una pobre reproducibilidad y precisión. Algunos autores (Nichols, Mitchell y Zadnik, 2004) han encontrado que la repetibilidad es mejor mientras más avanzada está la enfermedad. Por tanto, debido a su carácter invasivo y la variabilidad de los resultados obtenidos, se recomienda (Wolffsohn et al., 2017) únicamente para confirmar casos con deficiencia acuosa severa, como el síndrome de Sjögren (Vitali et al., 2002).

También, como en el caso del BUT y de la valoración de tinciones con fluoresceína, el test de Schirmer, si bien presentan algunos resultados controvertidos en su relación con determinados parámetros del menisco medidos con OCT (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015), la mayoría de los autores coinciden en la relación existente. Por poner algunos ejemplos, algunos autores (Czajkowski et al., 2012) dividieron la muestra de población de su estudio en tres grupos en función de los resultados del test de Schirmer II (con anestesia) encontrando una correlación positiva significativa, tanto de TMA como de TMH, sin embargo con TMD fue baja; en otros trabajos (Qiu, Gong, Sun, y Jin, 2011) estos tres parámetros estaban relacionados con con el test de Schirmer I; otros autores (Nguyen et al. en 2012) encuentran incluso una fuerte correlación de estos parámetros del menisco lagrimal. En otros estudios (Tung, Perin, Gumus y Pflugfelder,

## DISCUSIÓN

2014), realizados con el test de Schirmer I también se encuentra una correlación positiva significativa con las dimensiones de TMH y TMA, lo que también coincide con otros autores (Ibrahim et al., 2010). Finalmente indicar que podemos encontrar estudios (Akiyama, Usui y Yamagami, 2015) donde TMH, TMA y TMV del menisco inferior estaban relacionados significativamente con el test de Schirmer, al igual que en otros (Fukuda et al., 2013), que obtuvieron los mismos resultados excepto para TMH del menisco superior, y en el caso de TMV del menisco inferior los autores hallaron una fuerte correlación con el test de Schirmer, mayor que otros parámetros como TMH o TMA.

Por otro lado, si bien es cierto que no está extendida ampliamente de momento, podemos afirmar que la tecnología OCT actual permite sustituir al test de Schirmer, que a pesar de ser la referencia en la detección de pacientes con ADDE como hemos visto, además del tiempo necesario para su realización presenta numerosas desventajas, derivadas fundamentalmente de su carácter invasivo y del tiempo necesario para su realización.

Como hemos visto, en el informe DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), una de las pruebas adicionales realizadas que se han de establecer para clasificar los casos dentro del espectro ADDE-EDE es conocer el volumen lagrimal. En el caso de nuestro estudio, como ya veíamos en el capítulo de metodología, el test de Schirmer se ha utilizado previamente para la detección de los casos sospechosos de DED para la muestra 5 conjuntamente con el FBUT, de manera que para su diagnóstico definitivo tenían que cumplirse, o ambas condiciones (en serie), o indistintamente una de ellas (en paralelo). Como casos sospechosos de DED se ha elegido un valor de corte  $\leq 5.5$  mm con el objetivo de incluir aquellos casos que presentasen una secreción acuosa deficiente en un estadio avanzado, que tal como hemos adelantado es el ideal para su aplicación. Con este valor de corte, según algunos autores (van Bijsterveld y Mackor, 1989) presenta una sensibilidad para “síndrome seco” de un 85% y una especificidad del 83%. Pero además, para reforzar el diagnóstico de DED para estos casos sospechosos de acuodeficiencia, se ha optado por incluir como condición en serie que la altura del menisco medida a través de OCT aplicando el método LIMA (A) sea también inferior a 180  $\mu$ m.

De otro lado, el test de Schirmer ha sido también empleado para una posterior clasificación de las muestras diagnosticadas como DED entre aquellas eminentemente ADDE (si su resultado es menor o igual a 5,5 milímetros) o eminentemente EDE (si es mayor o igual a 7 milímetros) (Tomlinson et al., 2011). De forma adicional, con el objetivo de reforzar la clasificación, para considerarlos como ADDE debían también cumplir la condición en serie que A (medida con AS-

OCT y el método LIMA) fuese inferior a 180  $\mu\text{m}$ , además de demostrar que en al menos 2 de los siguientes signos no presentaban alteración: MGL, alteración del borde del párpado, expresión meibo, o calidad del meibo. Se ha pretendido de esta forma excluir en lo posible aquellos casos de ADDE que pudieran presentar formas mixtas con EDE.

### Presencia de MGD

Otra de las pruebas esenciales para averiguar el subtipo predominante dentro del espectro EDE-ADDE, tal como indica el informe DEWS II (Wolffsohn et al., 2017), es la presencia de MGD.

La detección de la forma subclínica de la MGD sólo es posible a través de la observación de la expresión glandular, o de técnicas de imagen que permitan observar la fisiología de la glándula (Tomlinson et al., 2011), como la meibografía.

En el caso de ser sintomática puede presentar signos clínicos específicos, que pueden a su vez subdividirse en intrínsecos (cuando sólo afectan a las MGs) o extrínsecos (si su apariencia puede coincidir con la de otras enfermedades de la superficie ocular). Entre los signos intrínsecos de la SMGD (la forma más frecuente de ojo seco evaporativo), puede destacarse el taponamiento del orificio, la posterior obstrucción y dilatación del conducto, seguido de la atrofia y finalmente la pérdida de la MG. Otra de las principales características intrínsecas de la SMGD es la alteración cualitativa en la secreción expresada por las MGs, transformándose el *meibum* en un material más viscoso y difícil o imposible de expresar, que ocasionalmente puede formar tapones visibles en los orificios meibomianos. Entre los signos extrínsecos podemos encontrar hiperemia y teleangiectasias en el borde palpebral. (Foulks y Bron, 2003)

Para determinar el valor de corte de los signos de SMGD, Foulks y Bron en 2003 propusieron lo siguiente: Sobre las 10 glándulas centrales del párpado superior analizaron las características de la secreción expresada: i) El volumen, a través del diámetro medido en milímetros de la máxima acumulación expresada (valor de corte  $\leq 0.5$  mm); en el caso de la blefaritis seborreica se establece como una de las principales alteraciones un aumento del diámetro por encima de 0.8 mm (Mathers and Lane, 1999). ii) La calidad, en función de si es: 0 = clara, 1 = turbia, 2 = granular o 3 = sólida (valor de corte  $\geq 1$ ). iii) El número de glándulas que no pueden ser expresadas, a partir de 2 o más como valor de corte. iv) La expresividad, en función de la presión aplicada: 0 = mínima, 1 = media, 2 = moderada o 3 = fuerte. Los autores también tienen en cuenta otros detalles en esta clasificación, como el número de MGs perdidas en los dos tercios centrales del párpado inferior, así como la presencia de muescas en su borde. Para

## DISCUSIÓN

terminar, se analizan los desechos del film lagrimal: 0 = ninguno, 1 = esporádicos, 2 = muchos fragmentos o 3 = racimos o hebras de fragmentos.(Foulks y Bron, 2003).

Pero hay que tener en cuenta que son numerosos los factores que hacen que el diagnóstico de MGD presente problemas de repetibilidad, como se refleja en algunos trabajos (Nichols, Mitchell y Zadnik, 2004), en un espacio de 3 semanas para casos con sequedad ocular media y alta fue pobre en la clasificación de MGD.

Como explicación, en primer lugar, habría que tener en cuenta que, por las propias características de la MGD, los síntomas son diferentes a los casos con ADDE (como ya se vio anteriormente), y los signos estudiados en cada trabajo para su clasificación son también más variados y complejos que para el diagnóstico del ADDE, como lo son también las diferentes pruebas diagnósticas. Esto ocurre especialmente en los casos con EDE derivados de SMGD, ya que en los casos con CMGD los signos son más evidentes y fáciles de evaluar.

En segundo lugar, hay determinadas características como la presencia de teleangiectasias (que ya veíamos anteriormente) o la MGL que se incrementan de forma natural con la edad, y que la mayoría de los trabajos no tienen en cuenta para un correcto diagnóstico. Como ejemplo, en algunos trabajos (Foulks y Bron, 2003) se cita un incremento de la pérdida glandular con la edad, sobre todo a partir de los 50 años.

Como tercer motivo, mencionar las que tienen que ver con el desarrollo de otra de las pruebas adicionales necesarias según el DEWS II: la dinámica-grosor de la capa lipídica, basadas principalmente en la interferometría y cada vez más sofisticadas en el desarrollo lógico de la capacidad instrumental con el tiempo. En algunos estudios (Goto y Tseng, 2003) se han desarrollado algoritmos para el cálculo de la TFLL en función de parámetros como el tiempo de esparcimiento de los lípidos y su patrón, la estabilidad posterior al esparcimiento, y la distribución de grosores. En base a estos se han estimado diferencias significativas, con un grosor de la TFLL de 74.5 +/- 6.9 nm en sujetos sanos, frente a 43.8 +/- 10.6 nm en pacientes con DED por deficiencia de lípidos en lágrima. El TearScience® LipiView® II (TearScience, Morrisville, NC), permite de forma automática medir el grosor de la TFLL, por lo que puede ser apropiado para la detección de MGD (Finis, Pischel, Schrader y Geerling, 2013), ya que se ha encontrado una alta probabilidad de MGD obstructiva en pacientes con bajos grosores de TFLL. Para un valor de corte de 75 nm, este instrumento presenta una sensibilidad del 65.8% y una especificidad del 63.4% en el diagnóstico de MGD. Sin duda la interferometría es una prueba que puede aportar información relevante para la clasificación del tipo de sequedad ocular, pero

## DISCUSIÓN

no se ha utilizado en este trabajo por no disponer del instrumental necesario, por lo que se han reforzado la valoración de otros signos de EDE en contraposición a los de ADDE, buscando las formas más puras de éstos en la clasificación de la muestra 5, bajo un criterio de simplicidad y economía de tiempo.

Por tanto, en primer lugar los sujetos clasificados como EDE, además de tener un volumen lagrimal igual o superior a 7 mm en la medida del test de Schirmer, deben también presentar una altura del menisco lagrimal igual o superior a 180  $\mu\text{m}$ , lo que disminuye la posibilidad de incluir formas mixtas con muestras de sujetos acuodeficientes. En segundo lugar, y con el objetivo de incluir criterios específicos de SMGD, se ha optado por realizar 4 pruebas: meibografía infrarroja, alteración del borde del párpado, expresión del *meibum* y calidad de las secreciones. De estas 4 pruebas, para su clasificación definitiva como eminentemente EDE, además deben cumplir como mínimo alteración en 2 de estas pruebas, que ampliamos a continuación.

No hay un referente establecido en la gradación de las MGs mediante meibografía infrarroja, pues se han descrito diferentes sistemas para analizar la pérdida glandular, como por ejemplo: en función del número de glándulas, porcentaje de sanas o pérdidas de forma total o parcial, u observando dilatación del conducto o la presencia de quistes traslúcidos y escaras (Pult y Nichols, 2012). Pero entre las clasificaciones más citadas (recogidas en la Figura 5.12) por detalladas (Pult y Nichols, 2012), podemos encontrar las propuestas por Pflugfelder et al. utilizando trans-iluminación palpebral en 1998, y utilizando Meibografía sin contacto: Nichols et al. en 2005, Arita, Itoh, Inque y Amano en 2008, y Pult y Riede-Pult en 2012.

Different grading scale in meibography

	<b>Grade 0</b>	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>	
Pflugfelder et al. <sup>40</sup>	No gland dropout	33% gland dropout	34%–66% gland dropout	More than 66% gland dropout	
	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>	<b>Grade 4</b>	
Nichols et al. <sup>18</sup>	No partial glands	Less than 25% of the image contains partial MG	Between 25% and 75% of the image contains partial MG	More than 75% of the image contains partial MG	
	<b>Grade 0</b>	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>	
Arita et al. <sup>14</sup>	No loss of meibomian glands	Area loss less than one third of the total MG area	Area loss between one-third and two-thirds of the total MG area	Area loss more than two-thirds of the total MG area	
	<b>Grade 0</b>	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>	<b>Grade 4</b>
Pult and Riede-Pult (submitted)	Area of loss 0%	Area of loss <25%	Area of loss 25%–50%	Area of loss 51%–75%	Area of loss >75%

MG, meibomian glands.

*Optometry and Vision Science*, Vol. 89, No. 5, May 2012

**Figura 5.12. Esquema de clasificación de las escalas más utilizadas en la Meibografía (Pult y Nichols, 2012).**

## DISCUSIÓN

La meibografía infrarroja no invasiva es una herramienta que de forma fácil puede proporcionar información sobre la severidad de la MGD en la práctica clínica (Ngo, Srinivasan y Jones, 2012). Aunque por sí sola no parece ser suficiente para el diagnóstico de MGD, presenta una elevada sensibilidad y especificidad si es combinada con otros test que analizan síntomas o anomalías en el borde del párpado (Arita et al., 2009). Además, se ha encontrado una fuerte relación entre síntomas de ojo seco y pérdida de MGs, a partir de un MGL mayor al 32% (Pult y Riede-Pult, 2012), así como un menor cambio de la morfología de la glándulas en pacientes con ADDE que en aquellos con EDE (Arita et al., 2015).

En el caso de la meibografía para este trabajo, se ha escogido un valor de corte de MGL mayor o igual a 2 en la escala de Pult y Riede-Pult de 2013, lo que supone según esta escala de gradación una pérdida glandular por encima de un 25%-50%. La pérdida de glándulas de Meibomio está directamente relacionada con la producción de lípidos y por ello con el EDE por MGD obstructiva, estableciéndose un punto de corte mayor o igual a grado 2 para diferenciarlo de los clasificados como ADDE, siguiendo el criterio de Arita et al. en 2010, que mostró una sensibilidad de un 68% y una especificidad del 80%.

Para considerar alteración en el borde del párpado se ha adaptado el criterio de Foulks y Bron de 2003, que propusieron en su trabajo una escala abreviada para ensayos clínicos con los valores de corte a partir de los cuales los signos pueden determinarse como compatibles con MGD. Como se vio en el capítulo de metodología, se han tenido en cuenta finalmente 4 signos (Tomlinson et al., 2011): presencia de teleangiectasias  $\geq 2$ , irregularidad del borde palpebral  $\geq 1$ , desplazamiento de la UMC, o alteración del orificio glandular  $\geq 2$ . Se ha puntuado de 0 a 4 en función del número de hallazgos, sospechando, si se dan al menos 2 de estos signos, la presencia de EDE por MGD obstructiva (Arita et al., 2010).

La producción de secreción de las glándulas de Meibomio (MGYLS) es diferente en cada tercio; de hecho se encontró que el tercio de la zona temporal del párpado eran 14 veces más propensas a no presentar expresión líquida alguna, y que ésta sólo se presentaba en un 6% de los casos frente a un 86% en la zona nasal, situándose la zona central entre ambas medidas y presentando todas ellas diferencias estadísticamente significativas (Korb y Blackie, 2008). Esta diferente expresión de cada zona ha sido corroborada por otros estudios (Blackie y Korb, 2010), que, además, analizado su evolución temporal a lo largo de 9 horas (considerado el periodo de un día



## DISCUSIÓN

laboral), han encontrado que las características individuales de la expresión de cada glándula no varía en función de su localización. Por ello, resulta apropiado especificar la localización en investigaciones que tengan en cuenta la expresividad de las MGs como medida de la MGD (Tomlinson et al., 2011).

Se han propuesto diferentes tipos de técnicas y escalas para la medida. Autores como Pflugfelder et al. en 1998 incluso evaluaban la expresividad del párpado superior, y al igual que Blackie y Korb en 2010 sobre 5 glándulas contiguas. Otros estudios (Korb y Blackie, 2008), como ya se vio anteriormente, miden la expresividad en función del número de glándulas sobre 8 de cada tercio del párpado inferior (se analizan 24 en total) que pueden expresar, puntuación denominada MGYLS. La puntuación obtenida en un pequeño grupo de sujetos jóvenes normales para todo el párpado fue de  $10.6 \pm 2.6$ , y entre el 25%-65% estaban activas, lo que sugiere que hay una marcada variación en la actividad entre ellas. Parece que el reservorio marginal de lípidos que se concentran en el borde del párpado son mantenidos por sólo una porción del número total de glándulas (Pflugfelder et al., 1998) (y no se sabe si retornan a su estado activo tras días o semanas), lo que como vimos con anterioridad en este trabajo ha de ser tenido en cuenta en el diagnóstico de la MGD.

A fecha de hoy (Wolffsohn et al., 2017) se sigue pensando que la cantidad y calidad de la expresión reflejan la función de la MG, aunque todavía no se ha establecido un valor diagnóstico para la DED. El subcomité de diagnóstico del MGDW (Tomlinson et al., 2011) propone un sistema de gradación a partir de signos clínicos y expresión de la glándula. En el apartado de la secreción expresada tiene en cuenta cuatro signos: i) la presencia de espuma o desechos en la lágrima, ii) el volumen expresado (midiendo su diámetro en mm), iii) la calidad de la expresión (0 = clara, 1 = turbia, 2 = granular, 3 = en pasta de dientes), y iv) la expresibilidad (1 = suave, 2 = moderada, 3 = fuerte). Añade que, basándonos tan sólo en la proporción de glándulas que pueden expresar, puede ser difícil diferenciar entre glándulas que no expresan por razones fisiológicas o patológicas. Por ello, considera que pueden ser de ayuda otros factores, como la pérdida glandular, y la observación de los orificios de las MGs y el borde palpebral con la ayuda de la lámpara de hendidura.

En el caso de la expresión de *meibum*, que veíamos en el capítulo de metodología de este trabajo, de acuerdo con el número de MGs centrales del párpado inferior analizadas se puntúa: 0, todas las glándulas; 1, de tres a cuatro glándulas; 2, de una a dos glándulas; y 3, ninguna. Se ha tomado el criterio de considerar como sospechoso de EDE hiposecretor a partir de grado 1, es

## DISCUSIÓN

decir, menos 1-2 glándulas de las 5 analizadas, tal como se recomienda por el MGDW (Tomlinson et al., 2011).

Usualmente la presión sobre el párpado se lleva a cabo mediante compresión digital contra el globo ocular, aplicando una “leve fuerza” para evaluar múltiples glándulas al mismo tiempo (Bron, Benjamin y Snibson, 1991). Aunque estudios más recientes introducen el concepto de diagnóstico controlado de la expresión, usando un dispositivo realizado al efecto (Korb y Blackie, 2008) que estandariza la técnica aplicando una fuerza de presión constante y controlada sobre una área total de 38.95 mm<sup>2</sup> durante un mínimo de 10 y un máximo de 15 segundos sobre el borde del párpado inferior, analizando tres zonas (nasal, central y temporal) de forma independiente (Blackie y Korb, 2010).

Según el MGDW (Tomlinson et al., 2011) sólo una fracción de las glándulas se mantiene activa al mismo tiempo, con la posible deducción de que cada glándula entra en un ciclo de actividad seguido de un periodo de quiescencia, momento en el que se reponen los acinos glandulares. Hay una distribución irregular de la actividad glandular a lo largo del párpado, con una menor actividad en las situadas temporalmente, mayor en las nasales. Durante el sueño, existe la hipótesis que el aceite secretado se acumula en las glándulas, y su exceso es expulsado al despertar, con la reanudación del parpadeo. La capa lipídica de la película lagrimal (TFLL) se forma a partir, tanto del reservorio marginal de lípidos, como de la expresión directa de las MGs. Durante el ascenso del párpado, los lípidos se esparcen desde el reservorio inferior hacia la película lagrimal para formarla, con lípidos polares o algunos otros componentes surfactantes de la TFLL interactuando con la fase acuosa de la película lagrimal. Una vez formada, la TFLL mantiene una relativa estabilidad entre los parpadeos hasta que ésta se reconstituye bruscamente por una mezcla de lípidos desde ambos reservorios, y el ciclo comienza nuevamente.

Se ha encontrado secreción a partir de 2 segundos de aplicar presión, con un tiempo medio para efectuar el drenaje de  $12.1 \pm 3.5$  segundos, aunque con la edad se produce un descenso significativo en la cantidad de secreción y en el número de glándulas que expresan correctamente. Sin embargo, no se ha demostrado que la edad acompañe un incremento en la opacidad o viscosidad de este fluido. (Tomlinson et al., 2011)

Finalmente, la calidad de las secreciones en cada una de las ocho MGs centrales del párpado inferior en este trabajo se ha valorado puntuándolas como: 0, claro; 1, turbio; 2, turbio y con detritos; y 3, espeso, con un rango de puntuación total de 0-24, según el criterio de Foulks y Bron de 2003. Se ha considerado un valor de corte  $\geq 10$  para clasificar los casos de EDE de baja secreción, tal como también recomienda el MGDW. (Tomlinson et al., 2011)

## DISCUSIÓN

Obviamente podrían haberse empleado otros métodos adicionales, como también podrían haberse endurecido los criterios de selección y clasificación, pero se han empleado finalmente los citados por la bibliografía más relevante publicada hasta el momento con la instrumentación disponible. Esto puede hacer que los resultados obtenidos en este trabajo para el último de los objetivos de la comparación de sujetos sanos, acuodeficientes y lipodeficientes pueda variar con respecto a otros trabajos publicados.

## DISCUSIÓN

## **CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

### 6. CONCLUSIONES

Tras el análisis de los resultados y discusión de éstos, podemos concluir que:

1. Ante la necesidad de un procedimiento que unifique los criterios de medición de los parámetros geométricos del menisco lagrimal inferior a través de AS-OCT, el método LIMA se ha demostrado válido, fiable y preciso en la medida del área trasversal.
2. A falta de estudios posteriores que analicen una muestra de población más numerosa, no se han observado diferencias con la edad en los parámetros geométricos A, B, R y área LIMA.
3. No se han encontrado diferencias entre sexos en ninguno de los parámetros analizados con el método LIMA, aunque ante estos resultados igualmente se ha de tener en cuenta la baja potencia estadística obtenida sobre la muestra de población general empleada.
4. Entre el grupo de sujetos sanos y los considerados con sequedad ocular se han encontrado diferencias en los parámetros geométricos analizados: A, B, área LIMA y  $\vartheta$ , excepto para el parámetro R.
5. Teniendo en cuenta el bajo número de sujetos analizados, el método LIMA, además de simple y rápido, ha demostrado ser útil para diferenciar los sujetos acuodeficientes de los lipodeficientes y de los sanos.

## CONCLUSIONES



## **CAPÍTULO 7. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**

## FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

## 7. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Tras la realización de esta Tesis Doctoral y después de llegar a las conclusiones vistas en el capítulo anterior, las futuras líneas de investigación deben ir encaminadas a:

1. Aumentar el tamaño de la muestra de sujetos con DED en posteriores estudios, que permita una mayor certidumbre en los resultados obtenidos.
2. Analizar otros parámetros del menisco lagrimal, para investigar la posible relación con el DED, en sus dos formas principales: ADDE y EDE, e incluso formas mixtas de la enfermedad dentro de ese espectro.
3. Aplicar el método LIMA diferenciando los sujetos acuodeficientes primarios de los secundarios al síndrome de Sjögren, y en el estudio de otras alteraciones de la lágrima, como la MGD hipersecretoria o las derivadas de patologías conjuntivales.

Todas estas futuras líneas de investigación, si los resultados así lo sostienen, podrían culminar con la implementación del método LIMA en los nuevos dispositivos AS-OCT que se comercialicen, pudiendo valorar las diferencias de los parámetros del menisco lagrimal entre este método y el utilizado en instrumentos ya existentes en el mercado. El objetivo último a considerar sería encontrar el factor de corrección a aplicar a cada instrumento para conseguir la compatibilidad y un acuerdo de medidas entre todos los dispositivos comerciales.

## FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

## **CAPÍTULO 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abelson, M. B., Ousler, G. W., 3rd, Nally, L. A., Welch, D., & Krenzer, K. (2002). Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 506(Pt B), 1121-1125.

Akiyama, R., Usui, T., & Yamagami, S. (2015). Diagnosis of dry eye by tear meniscus measurements using anterior segment swept source optical coherence tomography. *Cornea*, 34 Suppl 11, S115-20. doi:10.1097/ICO.0000000000000583 [doi]

Alhatem, A., Cavalcanti, B., & Hamrah, P. (2012). In vivo confocal microscopy in dry eye disease and related conditions. *Seminars in Ophthalmology*, 27(5-6), 138-148. doi:10.3109/08820538.2012.711416 [doi]

Amparo, F., Wang, H., Emami-Naeini, P., Karimian, P., & Dana, R. (2013). The ocular redness index: A novel automated method for measuring ocular injection. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(7), 4821-4826. doi:10.1167/iovs.13-12217 [doi]

Argueso, P., Tisdale, A., Spurr-Michaud, S., Sumiyoshi, M., & Gipson, I. K. (2006). Mucin characteristics of human corneal-limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(1), 113-119. doi:47/1/113 [pii]

Arita, R., Itoh, K., Inoue, K., & Amano, S. (2008). Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology*, 115(5), 911-915. doi:10.1016/j.ophtha.2007.06.031 [doi]

Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Tomidokoro, A., & Amano, S. (2010). Efficacy of diagnostic criteria for the differential diagnosis between obstructive meibomian gland dysfunction and aqueous deficiency dry eye. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 54(5), 387-391. doi:10.1007/s10384-010-0858-1 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Fukuoka, S., . . . Amano, S. (2009). *Proposed diagnostic criteria for obstructive meibomian gland dysfunction* doi:<https://doi.org/10.1016/j.opht.2009.04.037>

Arita, R., Morishige, N., Koh, S., Shirakawa, R., Kawashima, M., Sakimoto, T., . . . Tsubota, K. (2015). Increased tear fluid production as a compensatory response to meibomian gland loss: A multicenter cross-sectional study. *Ophthalmology*, *122*(5), 925-933. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.opht.2014.12.018>

Arriola-Villalobos, P., Fernandez-Vigo, J. I., Diaz-Valle, D., Peraza-Nieves, J. E., Fernandez-Perez, C., & Benitez-Del-Castillo, J. M. (2015). Assessment of lower tear meniscus measurements obtained with keratograph and agreement with fourier-domain optical-coherence tomography. *The British Journal of Ophthalmology*, doi:bjophthalmol-2014-306453 [pii]

Bandlitz, S., Purslow, C., Murphy, P. J., & Pult, H. (2014). Comparison of a new portable digital meniscometer and optical coherence tomography in tear meniscus radius measurement. *Acta Ophthalmologica*, *92*(2), e112-e118.

Bandlitz, S., Purslow, C., Murphy, P. J., & Pult, H. (2014). The relationship between tear meniscus regularity and conjunctival folds. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, *91*(9), 1037-1044. doi:10.1097/OPX.0000000000000358 [doi]

Bandlitz, S., Purslow, C., Murphy, P. J., Pult, H., & Bron, A. J. (2014). A new portable digital meniscometer. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, *91*(1), e1-8. doi:10.1097/OPX.0000000000000062 [doi]

Barr, J. T., Schechtman, K. B., Fink, B. A., Pierce, G. E., Pensyl, C. D., Zadnik, K., & Gordon, M. O. (1999). Corneal scarring in the collaborative longitudinal evaluation of keratoconus (CLEK) study: Baseline prevalence and repeatability of detection. *Cornea*, *18*(1), 34-46.

Bartuzel, M. M., Szczesna-Iskander, D. H., & Iskander, D. R. (2014). Automatic dynamic tear meniscus measurement in optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, *5*(8)



Begley, C. G., Chalmers, R. L., Abetz, L., Venkataraman, K., Mertzanis, P., Caffery, B. A., . . . Simpson, T. (2003). The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *44*(11), 4753-4761.

Behrens, A., Doyle, J. J., Stern, L., Chuck, R. S., McDonnell, P. J., Azar, D. T., . . . Dysfunctional tear syndrome study group. (2006). Dysfunctional tear syndrome: A delphi approach to treatment recommendations. *Cornea*, *25*(8), 900-907. doi:10.1097/01.icc.0000214802.40313.fa [doi]

Belmonte, C., Nichols, J. J., Cox, S. M., Brock, J. A., Begley, C. G., Bereiter, D. A., . . . Wolffsohn, J. S. (2017). TFOS DEWS II pain and sensation report. *The Ocular Surface*, *15*(3), 404-437. doi:S1542-0124(17)30115-5 [pii]

Berry, M., Pult, H., Purslow, C., & Murphy, P. J. (2008). Mucins and ocular signs in symptomatic and asymptomatic contact lens wear. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, *85*(10), E930-8. doi:10.1097/OPX.0b013e318188896b [doi]

Bitton, E., Keech, A., Simpson, T., & Jones, L. (2007). Variability of the analysis of the tear meniscus height by optical coherence tomography. *Optometry and Vision Science*, *84*(9), 903-908.

Blackie, C. A., & Korb, D. R. (2010). The diurnal secretory characteristics of individual meibomian glands. *Cornea*, *29*(1), 34-38. doi:10.1097/ICO.0b013e3181ac9fd0 [doi]

Bron, A. J., Argueso, P., Irkec, M., & Bright, F. V. (2015). Clinical staining of the ocular surface: Mechanisms and interpretations. *Progress in Retinal and Eye Research*, *44*, 36-61. doi:10.1016/j.preteyeres.2014.10.001 [doi]

Bron, A. J., Benjamin, L., & Snibson, G. R. (1991). Meibomian gland disease. classification and grading of lid changes. *Eye (London, England)*, *5* ( Pt 4)(Pt 4), 395-411. doi:10.1038/eye.1991.65 [doi]

Bron, A. J., de Paiva, C. S., Chauhan, S. K., Bonini, S., Gabison, E. E., Jain, S., . . . Sullivan, D. A. (2017). TFOS DEWS II pathophysiology report. *The Ocular Surface*, *15*(3), 438-510. doi:S1542-0124(17)30134-9 [pii]

Bron, A. J., Evans, V. E., & Smith, J. A. (2003). Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*, *22*(7), 640-650.

Bron, A. J., Tomlinson, A., Foulks, G. N., Pepose, J. S., Baudouin, C., Geerling, G., . . . Lemp, M. A. (2014). Rethinking dry eye disease: A perspective on clinical implications. *Ocular Surface*, *12*(2 SUPPL.), S1; S31.

Bron, A. J., Yokoi, N., Gaffney, E. A., & Tiffany, J. M. (2011). A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain marx's line. *The Ocular Surface*, *9*(2), 70-91. doi:[http://doi.org/10.1016/S1542-0124\(11\)70014-3](http://doi.org/10.1016/S1542-0124(11)70014-3)

Canan, H., Altan-Yaycioglu, R., Ulas, B., Sizmaz, S., & Coban-Karatas, M. (2014). Interexaminer reproducibility of optical coherence tomography for measuring the tear film meniscus. *Current Eye Research*, *39*(12), 1145-1150. doi:10.3109/02713683.2014.898311

Chan, H. H., Zhao, Y., Tun, T. A., & Tong, L. (2015). Repeatability of tear meniscus evaluation using spectral-domain cirrus® HD-OCT and time-domain visante® OCT doi:<https://doi.org/10.1016/j.clae.2015.04.002>

Chao, W., Belmonte, C., Benitez del Castillo, J. M., Bron, A. J., Dua, H. S., Nichols, K. K., . . . Sullivan, D. A. (2016). Report of the inaugural meeting of the TFOS i2 = initiating innovation series: Targeting the unmet need for dry eye treatment. *The Ocular Surface*, *14*(2), 264-316. doi:<http://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.11.003>

Chen, F., Shen, M., Chen, W., Wang, J., Li, M., Yuan, Y., & Lu, F. (2010). Tear meniscus volume in dry eye after punctal occlusion. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *51*(4), 1965-1969. doi:10.1167/iovs.09-4349 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clegg, J. P., Guest, J. F., Lehman, A., & Smith, A. F. (2006). The annual cost of dry eye syndrome in france, germany, italy, spain, sweden and the united kingdom among patients managed by ophthalmologists. *Ophthalmic Epidemiology*, *13*(4), 263-274. doi:K13M10W560W51667 [pii]
- Cox, S. M., & Nichols, J. J. (2015). Association between meibomian gland testing and ocular surface sensitivity. *Cornea*, *34*(10), 1187-1192. doi:10.1097/ICO.0000000000000549 [doi]
- Craig, J. P., Nelson, J. D., Azar, D. T., Belmonte, C., Bron, A. J., Chauhan, S. K., . . . Sullivan, D. A. (2017). TFOS DEWS II report executive summary. *The Ocular Surface*, *15*(4), 802-812. doi:S1542-0124(17)30214-8 [pii]
- Craig, J. P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C. K., . . . Stapleton, F. (2017). TFOS DEWS II definition and classification report. *The Ocular Surface*, *15*(3), 276-283. doi:S1542-0124(17)30119-2 [pii]
- Craig, J. P., Singh, I., Tomlinson, A., Morgan, P. B., & Efron, N. (2000). The role of tear physiology in ocular surface temperature. *Eye (London, England)*, *14* ( Pt 4)(Pt 4), 635-641. doi:10.1038/eye.2000.156 [doi]
- Czajkowski, G., Kaluzny, B. J., Laudenska, A., Malukiewicz, G., & Kaluzny, J. J. (2012). Tear meniscus measurement by spectral optical coherence tomography. *Optometry and Vision Science*, *89*(3), 336-342. doi:10.1097/OPX.0b013e318242042b
- D. Huang, "Anterior segment optical coherence tomography," in proceedings of the american academy of ophthalmology annual meeting, pp. 1–28, new orleans, la, USA, 2013.
- de Monchy, I., Gendron, G., Miceli, C., Pogorzalek, N., Mariette, X., & Labetoulle, M. (2011). Combination of the schirmer I and phenol red thread tests as a rescue strategy for diagnosis of ocular dryness associated with sjogren's syndrome. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *52*(8), 5167-5173. doi:10.1167/iovs.10-6671 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Denoyer, A., Rabut, G., & Baudouin, C. (2012). Tear film aberration dynamics and vision-related quality of life in patients with dry eye disease. *Ophthalmology*, *119*(9), 1811-1818. doi:10.1016/j.ophtha.2012.03.004 [doi]

Doane, M. G. (1994). Abnormalities of the structure of the superficial lipid layer on the in vivo dry-eye tear film. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *350*, 489-493.

Dogru, M., Ishida, K., Matsumoto, Y., Goto, E., Ishioka, M., Kojima, T., . . . Tsubota, K. (2006). Strip meniscometry: A new and simple method of tear meniscus evaluation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *47*(5), 1895-1901. doi:47/5/1895 [pii]

Doughty, M. J., Whyte, J., & Li, W. (2007). The phenol red thread test for lacrimal volume--does it matter if the eyes are open or closed? *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, *27*(5), 482-489. doi:OPO500 [pii]

Downie, L. E. (2015). Automated tear film surface quality breakup time as a novel clinical marker for tear hyperosmolarity in dry eye disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *56*(12), 7260-7268. doi:10.1167/iovs.15-17772 [doi]

Dua, H. S., Faraj, L. A., Said, D. G., Gray, T., & Lowe, J. (2013). Human corneal anatomy redefined: A novel pre-descemet's layer (dua's layer). *Ophthalmology*, *120*(9), 1778-1785. doi:10.1016/j.ophtha.2013.01.018 [doi]

Efron, N. (1998). Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, *18*(2), 182-186. doi:S0275540897000665 [pii]

Efron, N., Morgan, P. B., & Katsara, S. S. (2001). Validation of grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, *21*(1), 17-29. doi:S0275-5408(00)00037-5 [pii]

Egbert, P. R., Lauber, S., & Maurice, D. M. (1977). *A simple conjunctival biopsy* doi:[https://doi.org/10.1016/0002-9394\(77\)90499-8](https://doi.org/10.1016/0002-9394(77)90499-8) "

Epstein, S. P., Gadaria-Rathod, N., Wei, Y., Maguire, M. G., & Asbell, P. A. (2013). HLA-DR expression as a biomarker of inflammation for multicenter clinical trials of ocular surface disease. *Experimental Eye Research*, *111*, 95-104. doi:10.1016/j.exer.2013.03.018 [doi]

Erdelyi, B., Kraak, R., Zhivov, A., Guthoff, R., & Nemeth, J. (2007). In vivo confocal laser scanning microscopy of the cornea in dry eye. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht Von Graefes Archiv Fur Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie*, *245*(1), 39-44. doi:10.1007/s00417-006-0375-6 [doi]

Finis, D., Pischel, N., Schrader, S., & Geerling, G. (2013). Evaluation of lipid layer thickness measurement of the tear film as a diagnostic tool for meibomian gland dysfunction. *Cornea*, *32*(12), 1549-1553. doi:10.1097/ICO.0b013e3182a7f3e1 [doi]

Foulks, G. N., & Bron, A. J. (2003). Meibomian gland dysfunction: A clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *The Ocular Surface*, *1*(3), 107-126.

Fukuda, R., Usui, T., Miyai, T., Yamagami, S., & Amano, S. (2013). Tear meniscus evaluation by anterior segment swept-source optical coherence tomography. *American Journal of Ophthalmology*, *155*(4), 620-624. doi:10.1016/j.ajo.2012.11.009

Garaszczuk, I. K., Mousavi, M., Cervino Exposito, A., Bartuzel, M. M., Montes-Mico, R., & Iskander, D. R. (2018). Evaluating tear clearance rate with optical coherence tomography. *Contact Lens & Anterior Eye : The Journal of the British Contact Lens Association*, *41*(1), 54-59. doi:S1367-0484(17)30212-6 [pii]

Golding, T. R., Bruce, A. S., & Mainstone, J. C. (1997). Relationship between tear-meniscus parameters and tear-film breakup. *Cornea*, *16*(6), 649-661.

Goto, E., & Tseng, S. C. (2003). Differentiation of lipid tear deficiency dry eye by kinetic analysis of tear interference images. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, *121*(2), 173-180. doi:ecs10231 [pii]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Goto, T., Zheng, X., Okamoto, S., & Ohashi, Y. (2004). Tear film stability analysis system: Introducing a new application for videokeratography. *Cornea*, 23(8 Suppl), S65-70. doi:00003226-200411001-00012 [pii]
- Guillon, J., & Guillon, M. (1994). The role of tears in contact lens performance and its measurement. *Contact Lens Practice*, 21, 453-483.
- Guillon, M., Styles, E., Guillon, J. P., & Maïssa, C. (1997). Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 74(5), 273-279. doi:10.1097/00006324-199705000-00022
- Gumus, K., & Pflugfelder, S. C. (2013). Increasing prevalence and severity of conjunctivochalasis with aging detected by anterior segment optical coherence tomography. *American Journal of Ophthalmology*, 155(2), 238-242.e2. doi:10.1016/j.ajo.2012.07.014 [doi]
- Guo, B., Lu, P., Chen, X., Zhang, W., & Chen, R. (2010). Prevalence of dry eye disease in mongolians at high altitude in china: The henan eye study. *Ophthalmic Epidemiology*, 17(4), 234-241. doi:10.3109/09286586.2010.498659
- Hamrah, P., Alipour, F., Jiang, S., Sohn, J. H., & Foulks, G. N. (2011). Optimizing evaluation of lissamine green parameters for ocular surface staining. *Eye (London, England)*, 25(11), 1429-1434. doi:10.1038/eye.2011.184 [doi]
- Hirji, N., Patel, S., & Callander, M. (1989). Human tear film pre-rupture phase time (TP-RPT)--a non-invasive technique for evaluating the pre-corneal tear film using a novel keratometer mire. *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 9(2), 139-142.
- Hoh, H., Schirra, F., Kienecker, C., & Ruprecht, K. W. (1995). Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF): A definite diagnostic sign of dry eye. [LIDPARALLELE KONJUNKTIVALE FALTEN (LIPCOF) SIND EIN SICHERES DIAGNOSTISCHES ZEICHEN DES TROCKENEN AUGES] *Ophthalmologe*, 92(6), 802-808.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hong, J., Sun, X., Wei, A., Cui, X., Li, Y., Qian, T., . . . Xu, J. (2013). Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea*, *32*(5), 716-721. doi:10.1097/ICO.0b013e3182714425 [doi]
- Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W., . . . Puliafito, C. A. (1991). Optical coherence tomography. *Science (New York, N.Y.)*, *254*(5035), 1178-1181.
- Huang, D., Li, Y., & Radhakrishnan, S. (2004). Optical coherence tomography of the anterior segment of the eye. *Ophthalmology Clinics*, *17*(1), 1-6. doi:10.1016/S0896-1549(03)00103-2
- Ibrahim, O. M., Dogru, M., Takano, Y., Satake, Y., Wakamatsu, T. H., Fukagawa, K., . . . Fujishima, H. (2010). Application of visante optical coherence tomography tear meniscus height measurement in the diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmology*, *117*(10), 1923-1929. doi:10.1016/j.ophtha.2010.01.057 [doi]
- Izatt, J. A., Hee, M. R., Swanson, E. A., Lin, C. P., Huang, D., Schuman, J. S., . . . Fujimoto, J. G. (1994). Micrometer-scale resolution imaging of the anterior eye in vivo with optical coherence tomography. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, *112*(12), 1584-1589.
- Jackson, D. C., Zeng, W., Wong, C. Y., Mifsud, E. J., Williamson, N. A., Ang, C. S., . . . Downie, L. E. (2016). Tear interferon-gamma as a biomarker for evaporative dry eye disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *57*(11), 4824-4830. doi:10.1167/iovs.16-19757 [doi]
- Jacobi, C., Jacobi, A., Kruse, F. E., & Cursiefen, C. (2011). Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology. *Cornea*, *30*(12), 1289-1292. doi:10.1097/ICO.0b013e31821de383 [doi]
- Jester, J. V., Rife, L., Nii, D., Luttrull, J. K., Wilson, L., & Smith, R. E. (1982). In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *22*(5), 660-667.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Johnson, M. E., & Murphy, P. J. (2006). Temporal changes in the tear menisci following a blink. *Experimental Eye Research*, 83(3), 517-525. doi:S0014-4835(06)00169-2 [pii]
- Johnson, M. E., & Murphy, P. J. (2005). The effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea*, 24(7)
- Jonas, J. B., Xu, L., & Wang, Y. X. (2009). The beijing eye study. *Acta Ophthalmologica*, 87(3), 247-261. doi:10.1111/j.1755-3768.2008.01385.x [doi]
- Kanski, J. (2012). *Oftalmología clínica*. (Séptima Edición, Elsevier, Barcelona)
- Kaufman, H. E. (2013). The practical detection of mmp-9 diagnoses ocular surface disease and may help prevent its complications. *Cornea*, 32(2), 211-216. doi:10.1097/ICO.0b013e3182541e9a [doi]
- Keech, A., Flanagan, J., Simpson, T., & Jones, L. (2009). Tear meniscus height determination using the OCT2 and the RTVue-100. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 86(10), 1154-1159. doi:10.1097/OPX.0b013e3181bab0f5 [doi]
- Knop, E., Korb, D. R., Blackie, C. A., & Knop, N. (2010). The lid margin is an underestimated structure for preservation of ocular surface health and development of dry eye disease. *Developments in Ophthalmology*, 45, 108-122. doi:10.1159/000315024 [doi]
- Knop, E., Knop, N., Millar, T., Obata, H., & Sullivan, D. A. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4), 1938-1978. doi:10.1167/iovs.10-6997c
- Koh, S., Maeda, N., Hirohara, Y., Mihashi, T., Ninomiya, S., Bessho, K., . . . Tano, Y. (2006). Serial measurements of higher-order aberrations after blinking in normal subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(8), 3318-3324. doi:47/8/3318 [pii]



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Koh, S., Tung, C., Aquavella, J., Yadav, R., Zavislan, J., & Yoon, G. (2010). Simultaneous measurement of tear film dynamics using wavefront sensor and optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *51*(7), 3441-3448. doi:10.1167/iovs.09-4430
- Kojima, T., Matsumoto, Y., Dogru, M., & Tsubota, K. (2010). The application of in vivo laser scanning confocal microscopy as a tool of conjunctival in vivo cytology in the diagnosis of dry eye ocular surface disease. *Molecular Vision*, *16*, 2457-2464. doi:263 [pii]
- Korb, D. R., & Blackie, C. A. (2008). Meibomian gland diagnostic expressibility: Correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea*, *27*(10), 1142-1147. doi:10.1097/ICO.0b013e3181814cff [doi]
- Korb, D. R., Greiner, J. V., Herman, J. P., Hebert, E., Finnemore, V. M., Exford, J. M., . . . Olson, M. C. (2002). Lid-wiper epitheliopathy and dry-eye symptoms in contact lens wearers. *The CLAO Journal : Official Publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*, *28*(4), 211-216. doi:10.1097/01.ICL.0000029344.37847.5A [doi]
- Korb, D. R., Herman, J. P., Blackie, C. A., Scaffidi, R. C., Greiner, J. V., Exford, J. M., & Finnemore, V. M. (2010). Prevalence of lid wiper epitheliopathy in subjects with dry eye signs and symptoms. *Cornea*, *29*(4), 377-383. doi:10.1097/ICO.0b013e3181ba0cb2 [doi]
- Korb, D. R., Herman, J. P., Finnemore, V. M., Exford, J. M., & Blackie, C. A. (2008). An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining. *Eye & Contact Lens*, *34*(1), 61-64. doi:10.1097/ICL.0b013e31811ead93 [doi]
- Lemp, M. A. (1995). Report of the national eye Institute/Industry workshop on clinical trials in dry eyes. *The CLAO Journal : Official Publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*, *21*(4), 221-232.
- Lemp, M. A., & Hamill, J. R., Jr. (1973). Factors affecting tear film breakup in normal eyes. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, *89*(2), 103-105.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Lemp, M. A., Holly, F. J., Iwata, S., & Dohlman, C. H. (1970). The precorneal tear film. I. factors in spreading and maintaining a continuous tear film over the corneal surface. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 83(1), 89-94.

Lemp, M. A., Bron, A. J., Baudouin, C., Benítez del Castillo, J. M., Geffen, D., Tauber, J., . . . Sullivan, B. D. (2011). Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *American Journal of Ophthalmology*, 151(5), 792-798.e1. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2010.10.032>

Li, M., Gong, L., Chapin, W. J., & Zhu, M. (2012). Assessment of vision-related quality of life in dry eye patients. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(9), 5722-5727. doi:10.1167/iovs.11-9094 [doi]

Li, N., Deng, X. G., & He, M. F. (2012). Comparison of the schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *International Journal of Ophthalmology*, 5(4), 478-481. doi:10.3980/j.issn.2222-3959.2012.04.14 [doi]

Lim, S. (2015). Clinical applications of anterior segment optical coherence tomography doi:10.1155/2015/605729

Manning, F. J., Wehrly, S. R., & Foulks, G. N. (1995). Patient tolerance and ocular surface staining characteristics of lissamine green versus rose bengal. *Ophthalmology*, 102(12), 1953-1957. doi:S0161-6420(95)30769-5 [pii]

Masmali, A. M., Al-Qhtani, S., Al-Gasham, T. M., El-Hiti, G. A., Purslow, C., & Murphy, P. J. (2015). Application of a new grading scale for tear ferning in non-dry eye and dry eye subjects. *Contact Lens & Anterior Eye : The Journal of the British Contact Lens Association*, 38(1), 39-43. doi:10.1016/j.clae.2014.09.007 [doi]

Masmali, A. M., Purslow, C., & Murphy, P. J. (2014). The tear ferning test: A simple clinical technique to evaluate the ocular tear film. *Clinical & Experimental Optometry*, 97(5), 399-406. doi:10.1111/cxo.12160 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mathers, W. D., Daley, T., & Verdick, R. (1994). Video imaging of the meibomian gland. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, *112*(4), 448-449.
- Mathers, W. D., & Lane, J. A. (1998). Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *438*, 349-360.
- Mathers, W. D., Shields, W. J., Sachdev, M. S., Petroll, W. M., & Jester, J. V. (1991). Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea*, *10*(4), 277-285.
- McCulley, J. P., Dougherty, J. M., & Deneau, D. G. (1982). Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology*, *89*(10), 1173-1180. doi:S0161-6420(82)34669-2 [pii]
- McDonald, J. E., & Brubaker, S. (1971). Meniscus-induced thinning of tear films. *American Journal of Ophthalmology*, *72*(1), 139-146. doi:0002-9394(71)91604-7 [pii]
- McMonnies, C. W., & Chapman-Davies, A. (1987). Assessment of conjunctival hyperemia in contact lens wearers. part II. *American Journal of Optometry and Physiological Optics*, *64*(4), 251-255.
- Meadows, J. F., Dionne, K., & Nichols, K. K. (2016). Differential profiling of T-cell cytokines as measured by protein microarray across dry eye subgroups. *Cornea*, *35*(3), 329-335. doi:10.1097/ICO.0000000000000721 [doi]
- Meller, D., & Tseng, S. C. (1998). Conjunctivochalasis: Literature review and possible pathophysiology. *Survey of Ophthalmology*, *43*(3), 225-232. doi:S003962579800037X [pii]
- Messmer, E. M., Torres Suarez, E., Mackert, M. I., Zapp, D. M., & Kampik, A. (2005). In vivo confocal microscopy in blepharitis. [Konfokale In-vivo-Mikroskopie bei Blepharitis] *Klinische Monatsblatter Fur Augenheilkunde*, *222*(11), 894-900. doi:10.1055/s-2005-858798 [doi]
- Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: Report of the diagnostic methodology subcommittee of the international dry eye WorkShop (2007). (2007). *The Ocular Surface*, *5*(2), 108-152.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Miller, K. L., Walt, J. G., Mink, D. R., Satram-Hoang, S., Wilson, S. E., Perry, H. D., . . . Pflugfelder, S. C. (2010). Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 128(1), 94-101. doi:10.1001/archophthalmol.2009.356 [doi]

Milner, M. S., Beckman, K. A., Luchs, J. I., Allen, Q. B., Awdeh, R. M., Berdahl, J., . . . Yeu, E. (2017). Dysfunctional tear syndrome: Dry eye disease and associated tear film disorders - new strategies for diagnosis and treatment. *Current Opinion in Ophthalmology*, 27 Suppl 1, 3-47. doi:10.1097/01.icu.0000512373.81749.b7 [doi]

Miyata, K., Amano, S., Sawa, M., & Nishida, T. (2003). A novel grading method for superficial punctate keratopathy magnitude and its correlation with corneal epithelial permeability. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 121(11), 1537-1539. doi:10.1001/archophth.121.11.1537 [doi]

Moss, S. E., Klein, R., & Klein, B. E. K. (2008). Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optometry and Vision Science*, 85(8), 668-674. doi:10.1097/OPX.0b013e318181a947

Mrugacz, M., Kasacka, I., Bakunowicz-Lazarczyk, A., Kaczmarski, M., & Kulak, W. (2008). Impression cytology of the conjunctival epithelial cells in patients with cystic fibrosis. *Eye (London, England)*, 22(9), 1137-1140. doi:6702867 [pii]

Nelson, J. D., Craig, J. P., Akpek, E. K., Azar, D. T., Belmonte, C., Bron, A. J., . . . Sullivan, D. A. (2017). TFOS DEWS II introduction. *The Ocular Surface*, 15(3), 269-275. doi:S1542-0124(17)30120-9 [pii]

Nelson, J. D., Havener, V. R., & Cameron, J. D. (1983). Cellulose acetate impressions of the ocular surface. dry eye states. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 101(12), 1869-1872.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nelson, J. D., Shimazaki, J., Benitez-del-Castillo, J. M., Craig, J. P., McCulley, J. P., Den, S., & Foulks, G. N. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the definition and classification subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4), 1930-1937. doi:10.1167/iovs.10-6997b [doi]
- Ngo, W., Srinivasan, S., & Jones, L. (2012). Historical overview of imaging the meibomian glands. *Journal of Optometry*, 6(1), 1-8. doi:10.1016/j.optom.2012.10.001
- Nguyen, P., Huang, D., Li, Y., Sadda, S. R., Ramos, S., Pappuru, R. R., & Yiu, S. C. (2012). Correlation between optical coherence tomography-derived assessments of lower tear meniscus parameters and clinical features of dry eye disease. *Cornea*, 31(6), 680-685. doi:10.1097/ICO.0b013e3182261577 [doi]
- Nichols, J. J., Nichols, K. K., Puent, B., Saracino, M., & Mitchell, G. L. (2002). Evaluation of tear film interference patterns and measures of tear break-up time. *Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry*, 79(6), 363-369. doi:00006324-200206000-00009 [pii]
- Nichols, K. K., Mitchell, G. L., & Zadnik, K. (2004). The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea*, 23(3), 272-285. doi:00003226-200404000-00010 [pii]
- Nichols, K. K., Foulks, G. N., Bron, A. J., Glasgow, B. J., Dogru, M., Tsubota, K., . . . Sullivan, D. A. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: Executive summary. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4), 1922-1929. doi:10.1167/iovs.10-6997a
- Norn, M. (1994). Quantitative tear ferning. clinical investigations. *Acta Ophthalmologica*, 72(3), 369-372.
- Norn, M. S. (1962). Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmologica*, 40(4), 389-401. doi:10.1111/j.1755-3768.1962.tb02387.x
- Oguz, H., Yokoi, N., & Kinoshita, S. (2000). The height and radius of the tear meniscus and methods for examining these parameters. *Cornea*, 19(4), 497-500.

Palakuru, J.,R., Wang, ,Jianhua, & Aquavella, J.,V. (2007). Effect of blinking on tear dynamics. *Investigative Ophthalmology & Visual.Science*, 48(7), 3032-3037. doi:10.1167/iovs.06-1507 [doi]

Palakuru, J. R., Wang, J., & Aquavella, J. V. (2008). Effect of blinking on tear volume after instillation of midviscosity artificial tears. *American Journal of Ophthalmology*, 146(6), 920-924. doi:10.1016/j.ajo.2008.06.020 [doi]

Papas, E. B. (2000). Key factors in the subjective and objective assessment of conjunctival erythema. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41(3), 687-691.

Patel, S., Farrell, J., Blades, K. J., & Grierson, D. J. (1998). The value of a phenol red impregnated thread for differentiating between the aqueous and non-aqueous deficient dry eye. *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 18(6), 471-476. doi:S0275540898000052 [pii]

Peterson, R. C., & Wolffsohn, J. S. (2007). Sensitivity and reliability of objective image analysis compared to subjective grading of bulbar hyperaemia. *The British Journal of Ophthalmology*, 91(11), 1464-1466. doi:bj.o.2006.112680 [pii]

Peterson, R. C., & Wolffsohn, J. S. (2009). Objective grading of the anterior eye. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 86(3), 273-278. doi:10.1097/OPX.0b013e3181981976 [doi]

Peterson, R. C., Wolffsohn, J. S., & Fowler, C. W. (2006). Optimization of anterior eye fluorescein viewing. *American Journal of Ophthalmology*, 142(4), 572-575. doi:S0002-9394(06)00573-3 [pii]

Pflugfelder, S. C., Tseng, S. C., Sanabria, O., Kell, H., Garcia, C. G., Felix, C., . . . Reis, B. L. (1998). Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea*, 17(1), 38-56. doi:00003226-199801000-00007 [pii]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Potvin, R., Makari, S., & Rapuano, C. J. (2015). Tear film osmolarity and dry eye disease: A review of the literature. *Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 9, 2039-2047. doi:10.2147/OPTH.S95242 [doi]

Pult, H., & Nichols, J. J. (2012). A review of meibography. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 89(5), E760-9. doi:10.1097/OPX.0b013e3182512ac1 [doi]

Pult, H., Purslow, C., Berry, M., & Murphy, P. J. (2008). Clinical tests for successful contact lens wear: Relationship and predictive potential. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 85(10), E924-9. doi:10.1097/OPX.0b013e3181888909 [doi]

Pult, H., & Riede-Pult, B. (2013). Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens & Anterior Eye : The Journal of the British Contact Lens Association*, 36(1), 22-27. doi:10.1016/j.clae.2012.10.074 [doi]

Pult, H., & Riede-Pult, B. H. (2012). Non-contact meibography: Keep it simple but effective. *Contact Lens & Anterior Eye : The Journal of the British Contact Lens Association*, 35(2), 77-80. doi:10.1016/j.clae.2011.08.003 [doi]

Pult, H., & Riede-Pult, B. H. (2015). Impact of conjunctival folds on central tear meniscus height. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56(3), 1459-1466. doi:10.1167/iops.14-15908 [doi]

Pult, H., Riede-Pult, B. H., & Murphy, P. J. (2013). The relation between blinking and conjunctival folds and dry eye symptoms. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 90(10), 1034-1039. doi:10.1097/OPX.0000000000000029 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pult, H., Tosatti, S. G., Spencer, N. D., Asfour, J. M., Ebenhoch, M., & Murphy, P. J. (2015). Spontaneous blinking from a tribological viewpoint. *The Ocular Surface*, 13(3), 236-249. doi:10.1016/j.jtos.2014.12.004 [doi]
- Qiu, X., Gong, L., Sun, X., & Jin, H. (2011). Age-related variations of human tear meniscus and diagnosis of dry eye with fourier-domain anterior segment optical coherence tomography. *Cornea*, 30(5), 543-549. doi:10.1097/ICO.0b013e3181fb84ea [doi]
- Qiu, X., Gong, L., Lu, Y., Jin, H., & Robitaille, M. (2012). The diagnostic significance of fourier-domain optical coherence tomography in sjogren syndrome, aqueous tear deficiency and lipid tear deficiency patients. *Acta Ophthalmologica*, 90(5), e359-e366. doi:10.1111/j.1755-3768.2012.02413.x
- Radhakrishnan, S., Rollins, A. M., Roth, J. E., Yazdanfar, S., Westphal, V., Bardenstein, D. S., & Izatt, J. A. (2001). Real-time optical coherence tomography of the anterior segment at 1310 nm. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 119(8), 1179-1185. doi:els00051 [pii]
- Randon, M., Liang, H., El Hamdaoui, M., Tahiri, R., Batellier, L., Denoyer, A., . . . Baudouin, C. (2015). In vivo confocal microscopy as a novel and reliable tool for the diagnosis of demodex eyelid infestation. *The British Journal of Ophthalmology*, 99(3), 336-341. doi:10.1136/bjophthalmol-2014-305671 [doi]
- Robin, J. B., Jester, J. V., Nobe, J., Nicolaides, N., & Smith, R. E. (1985). In vivo transillumination biomicroscopy and photography of meibomian gland dysfunction. A clinical study. *Ophthalmology*, 92(10), 1423-1426. doi:S0161-6420(85)33848-4 [pii]
- Rolando, M., Baldi, F., & Zingirian, M. (1986). The effect of hyperosmolarity on tear mucus ferning. *Fortschritte Der Ophthalmologie : Zeitschrift Der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 83(6), 644-646.
- Rollins, A., Yazdanfar, S., Kulkarni, M., Ung-Arunyawee, R., & Izatt, J. (1998). In vivo video rate optical coherence tomography. *Optics Express*, 3(6), 219-229. doi:63318 [pii]



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Savini, G., Barboni, P., & Zanini, M. (2006). Tear meniscus evaluation by optical coherence tomography. *Ophthalmic Surgery Lasers & Imaging*, 37(2), 112-118.
- Savini, G., Goto, E., Carbonelli, M., Barboni, P., & Huang, D. (2009). Agreement between stratus and visante optical coherence tomography systems in tear meniscus measurements. *Cornea*, 28(2), 148-151.
- Schaumberg, D. A., Dana, R., Buring, J. E., & Sullivan, D. A. (2009). Prevalence of dry eye disease among US men: Estimates from the physicians' health studies. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 127(6), 763-768. doi:10.1001/archophthalmol.2009.103 [doi]
- Schiffman, R. M., Christianson, M. D., Jacobsen, G., Hirsch, J. D., & Reis, B. L. (2000). Reliability and validity of the ocular surface disease index. *Archives of Ophthalmology*, 118(5), 615-621.
- Shen, M., Li, J., Wang, J., Ma, H., Cai, C., Tao, A., . . . Lu, F. (2009). Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 50(6), 2722-2726. doi:10.1167/iovs.08-2704 [doi]
- Shen, M., Wang, J., Tao, A., Chen, Q., Lin, S., Qu, J., & Lu, F. (2008). Diurnal variation of upper and lower tear menisci. *American Journal of Ophthalmology*, 145(5), 801-806. doi:10.1016/j.ajo.2007.12.024 [doi]
- Shiboski, S. C., Shiboski, C. H., Criswell, L., Baer, A., Challacombe, S., Lanfranchi, H., . . . Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups. (2012). American college of rheumatology classification criteria for sjogren's syndrome: A data-driven, expert consensus approach in the sjogren's international collaborative clinical alliance cohort. *Arthritis Care & Research*, 64(4), 475-487.
- Srinivasan, S., Menzies, K., Sorbara, L., & Jones, L. (2012). Infrared imaging of meibomian gland structure using a novel keratograph. *Optometry and Vision Science : Official Publication*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

of the American Academy of Optometry, 89(5), 788-794. doi:10.1097/OPX.0b013e318253de93  
[doi]

Stapleton, F., Alves, M., Bunya, V. Y., Jalbert, I., Lekhanont, K., Malet, F., . . . Jones, L. (2017). TFOS DEWS II epidemiology report. *The Ocular Surface*, 15(3), 334-365. doi:S1542-0124(17)30109-X [pii]

Sullivan, B. D., Crews, L. A., Messmer, E. M., Foulks, G. N., Nichols, K. K., Baenninger, P., . . . Lemp, M. A. (2014). Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: Clinical implications. *Acta Ophthalmologica*, 92(2), 161-166. doi:10.1111/aos.12012 [doi]

Sullivan, B. (2014). Challenges in using signs and symptoms to evaluate new biomarkers of dry eye disease doi:<https://doi.org/10.1016/j.jtos.2013.10.002> "

Szczesna, D. H., & Iskander, D. R. (2009). Robust estimation of tear film surface quality in lateral shearing interferometry. *Journal of Biomedical Optics*, 14(6), 064039. doi:10.1117/1.3275474 [doi]

Tapasztó, B., Veres, A., Kosina-Hagyó, K., Somfai, G. M., & Németh, J. (2011). OCT imaging of lid-parallel conjunctival folds in soft contact lens wearers. *Optometry and Vision Science*, 88(10), 1206-1213.

Tapie, R. (1977). Biomicroscopical study of meibomian glands

The definition and classification of dry eye disease: Report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye WorkShop (2007). (2007). *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92.

The Ocular Surface Disease Index (OSDI), developed by the Outcomes Research Group at Allergan Inc (Irvine, Calif), (Walt JGRowe MMStern KL). (1997). Evaluating the functional impact of dry eye: The ocular surface disease index [abstract]. *Drug Inf J*. 1997. *Drug Inf J*,

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Tiffany, J. M., Todd, B. S., & Baker, M. R. (1998). Computer-assisted calculation of exposed area of the human eye. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 438, 433-439.

Tittler, E. H., Bujak, M. C., Nguyen, P., Zhang, X., Li, Y., Yiu, S. C., & Huang, D. (2011). Between-grader repeatability of tear meniscus measurements using fourier-domain OCT in patients with dry eye. *Ophthalmic Surgery, Lasers & Imaging: The Official Journal of the International Society for Imaging in the Eye*, 42(5), 423-42. doi:10.3928/15428877-20110812-05 [doi]

Toda, I., & Tsubota, K. (1993). Practical double vital staining for ocular surface evaluation. *Cornea*, 12(4), 366-367.

Tole, D. M., McKelvie, P. A., & Daniell, M. (2001). Reliability of impression cytology for the diagnosis of ocular surface squamous neoplasia employing the biopore membrane. *The British Journal of Ophthalmology*, 85(2), 154-158.

Tomlinson, A., Bron, A. J., Korb, D. R., Amano, S., Paugh, J. R., Pearce, E. I., . . . Dogru, M. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the diagnosis subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4), 2006-2049. doi:10.1167/iovs.10-6997f [doi]

Tomlinson, A., Khanal, S., Ramaesh, K., Diaper, C., & McFadyen, A. (2006). Tear film osmolarity: Determination of a referent for dry eye diagnosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(10), 4309-4315. doi:47/10/4309 [pii]

Tseng, S. C. (1994). Evaluation of the ocular surface in dry-eye conditions. *International Ophthalmology Clinics*, 34(1), 57-69.

Tung, C. I., Perin, A. F., Gumus, K., & Pflugfelder, S. C. (2014). Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *American Journal of Ophthalmology*, 157(2), 301-310.e1. doi:10.1016/j.ajo.2013.09.024 [doi]

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Uchino, M., Uchino, Y., Dogru, M., Kawashima, M., Yokoi, N., Komuro, A., . . . Tsubota, K. (2014). *Dry eye disease and work productivity loss in visual display users: The osaka study* doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2013.10.014>

Vaikoussis, E., Georgiou, P., & Nomicarios, D. (1994). Tear mucus ferning in patients with sjogren's syndrome. *Documenta Ophthalmologica. Advances in Ophthalmology*, 87(2), 145-151.

van Bijsterveld, O. P. (1969). Diagnostic tests in the sicca syndrome. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 82(1), 10-14.

van Bijsterveld, O. P., & Mackor, A. J. (1989). Sjogren's syndrome and tear function parameters. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 7(2), 151-154.

Vehof, J., Wang, B., Kozareva, D., Hysi, P. G., Snieder, H., & Hammond, C. J. (2014). The heritability of dry eye disease in a female twin cohort. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55(11), 7278-7283. doi:10.1167/iovs.14-15200 [doi]

Vehof, J., Kozareva, D., Hysi, P. G., & Hammond, C. J. (2014). Prevalence and risk factors of dry eye disease in a british female cohort. *British Journal of Ophthalmology*, 98(12), 1712-1717. doi:10.1136/bjophthalmol-2014-305201

Veres, A., Tapaszto, B., Kosina-Hagyó, K., Somfai, G. M., & Nemeth, J. (2011). Imaging lid-parallel conjunctival folds with OCT and comparing its grading with the slit lamp classification in dry eye patients and normal subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(6), 2945-2951. doi:10.1167/iovs.10-5505 [doi]

Versura, P., Profazio, V., & Campos, E. C. (2010). Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Current Eye Research*, 35(7), 553-564. doi:10.3109/02713683.2010.484557 [doi]

Villani, E., Beretta, S., Galimberti, D., Viola, F., & Ratiglia, R. (2011). In vivo confocal microscopy of conjunctival roundish bright objects: Young, older, and sjogren subjects.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(7), 4829-4832. doi:10.1167/iovs.10-6215 [doi]

Villani, E., Galimberti, D., Viola, F., Mapelli, C., & Ratiglia, R. (2007). The cornea in sjogren's syndrome: An in vivo confocal study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(5), 2017-2022. doi:48/5/2017 [pii]

Villani, E., Magnani, F., Viola, F., Santaniello, A., Scorza, R., Nucci, P., & Ratiglia, R. (2013). In vivo confocal evaluation of the ocular surface morpho-functional unit in dry eye. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 90(6), 576-586. doi:10.1097/OPX.0b013e318294c184 [doi]

Viso, E., Rodriguez-Ares, M. T., Abelenda, D., Oubina, B., & Gude, F. (2012). Prevalence of asymptomatic and symptomatic meibomian gland dysfunction in the general population of spain. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(6), 2601-2606. doi:10.1167/iovs.11-9228 [doi]

Viso, E., Rodriguez-Ares, M. T., & Gude, F. (2009). Prevalence of and associated factors for dry eye in a spanish adult population (the salnes eye study). *Ophthalmic Epidemiology*, 16(1), 15-21. doi:10.1080/09286580802228509 [doi]

Vitali, C., Bombardieri, S., Jonsson, R., Moutsopoulos, H. M., Alexander, E. L., Carsons, S. E., . . . European Study Group on Classification Criteria for Sjogren's Syndrome. (2002). Classification criteria for sjogren's syndrome: A revised version of the european criteria proposed by the american-european consensus group. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 61(6), 554-558.

Walt, J., Rowe, M., & Stern, K. (1997). Evaluating the functional impact of dry eye: The ocular surface disease index. *Drug Inf J*, 31(1436), b5.

Wang, C., Liu, Y., Yuan, J., Li, B., & Zhou, S. (2009). [Application of anterior segment optical coherence tomography for measuring the tear meniscus height in the diagnosis of dry eye diseases]. [*Zhonghua Yan Ke Za Zhi*] *Chinese Journal of Ophthalmology*, 45(7), 616-20.

Wang, J., Aquavella, J., Palakuru, J., & Chung, S. (2006). Repeated measurements of dynamic tear distribution on the ocular surface after instillation of artificial tears. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(8), 3325-3329. doi:47/8/3325 [pii]

Wang, J., Aquavella, J., Palakuru, J., Chung, S., & Feng, C. (2006). Relationships between central tear film thickness and tear menisci of the upper and lower eyelids. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(10), 4349-4355. doi:10.1167/iovs.05-1654

Wei, Y., & Asbell, P. A. (2014). The core mechanism of dry eye disease is inflammation. *Eye & Contact Lens*, 40(4), 248-256. doi:10.1097/ICL.0000000000000042 [doi]

Whitcher, J. P., Shiboski, C. H., Shiboski, S. C., Heidenreich, A. M., Kitagawa, K., Zhang, S., . . . Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance Research Groups. (2010). A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the sjogren's syndrome international registry. *American Journal of Ophthalmology*, 149(3), 405-415. doi:10.1016/j.ajo.2009.09.013 [doi]

Willcox, M. D. P., Argueso, P., Georgiev, G. A., Holopainen, J. M., Laurie, G. W., Millar, T. J., . . . Jones, L. (2017). TFOS DEWS II tear film report. *The Ocular Surface*, 15(3), 366-403. doi:S1542-0124(17)30072-1 [pii]

Wolffsohn, J. S., Arita, R., Chalmers, R., Djalilian, A., Dogru, M., Dumbleton, K., . . . Craig, J. P. (2017). TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *The Ocular Surface*, 15(3), 539-574. doi:S1542-0124(17)30110-6 [pii]

Wolffsohn, J. S., & Purslow, C. (2003). Clinical monitoring of ocular physiology using digital image analysis. *Contact Lens & Anterior Eye : The Journal of the British Contact Lens Association*, 26(1), 27-35. doi:S1367-0484(02)00062-0 [pii]

Wylegala, E., Teper, S., Nowinska, A. K., Milka, M., & Dobrowolski, D. (2009). Anterior segment imaging: Fourier-domain optical coherence tomography versus time-domain optical

coherence tomography. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 35(8), 1410-1414. doi:10.1016/j.jcrs.2009.03.034 [doi]

Yadav, R., Lee, K. S., Rolland, J. P., Zavislan, J. M., Aquavella, J. V., & Yoon, G. (2011). Micrometer axial resolution OCT for corneal imaging. *Biomedical Optics Express*, 2(11), 3037-3046. doi:10.1364/BOE.2.003037 [doi]

Yokoi, N., Bron, A., Tiffany, J., Brown, N., Hsuan, J., & Fowler, C. (1999). Reflective meniscometry: A non-invasive method to measure tear meniscus curvature. *British Journal of Ophthalmology*, 83(1), 92-97.

Yokoi, N., Bron, A. J., Tiffany, J. M., & Kinoshita, S. (2000). Reflective meniscometry: A new field of dry eye assessment. *Cornea*, 19(3 Suppl), S37-43.

Yokoi, N., Komuro, A., Yamada, H., Maruyama, K., & Kinoshita, S. (2007). A newly developed video-meibography system featuring a newly designed probe. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 51(1), 53-56. doi:10.1007/s10384-006-0397-y [doi]

Yokoi, N., Yamada, H., Mizukusa, Y., Bron, A. J., Tiffany, J. M., Kato, T., & Kinoshita, S. (2008). Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(12), 5319-5324. doi:10.1167/iovs.07-1407 [doi]

Yoon, K. C., Im, S. K., Kim, H. G., & You, I. C. (2011). Usefulness of double vital staining with 1% fluorescein and 1% lissamine green in patients with dry eye syndrome. *Cornea*, 30(9), 972-976. doi:10.1097/ICO.0b013e31820687dd [doi]

Zhou, S., Li, Y., Lu, A. T., Liu, P., Tang, M., Yiu, S. C., & Huang, D. (2009). Reproducibility of tear meniscus measurement by fourier-domain optical coherence tomography: A pilot study. *Ophthalmic Surgery Lasers & Imaging*, 40(5), 442-447. doi:10.3928/15428877-20090901-01

Zuazo, F., Lopez-Ponce, D., Salinas-Toro, D., Valenzuela, F., Sans-Puroja, J., Srur, M., . . . Traipe-Castro, L. (2014). Conjunctival impression cytology in patients with normal and impaired

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

OSDI scores. [Citología de impresión conjuntival en pacientes con valores OSDI normales y alterados] *Archivos De La Sociedad Espanola De Oftalmologia*, 89(10), 391-396. doi:10.1016/j.ofal.2014.04.013 [doi]



## **LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS**

## LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS

## Lista de Tablas

**Tabla 3.1.** Algoritmo de diferenciación entre sujetos sanos y sospechosos de sequedad ocular.

**Tabla 3.2.** Algoritmo de clasificación entre sujetos co ojo seco acuodeficiente y evaporativo.

**Tabla 4.1.** Datos demográficos de la muestra 1.

**Tabla 4.2.** Datos demográficos de la muestra 4 en función de la edad.

**Tabla 4.3.** Descriptivos de la altura del menisco por grupos de edad.

**Tabla 4.4.** Descriptivos de la profundidad del menisco por grupos de edad.

**Tabla 4.5.** Descriptivos del radio de curvatura del menisco por grupos de edad.

**Tabla 4.6.** Descriptivos del ángulo de contacto del menisco por grupos de edad.

**Tabla 4.7.** Descriptivos del área LIMA del menisco por grupos de edad.

**Tabla 4.8.** Resumen de los resultados obtenidos de los parámetros del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Tabla 4.9.** Datos demográficos de la muestra 4 en función del sexo.

**Tabla 4.10.** Descriptivos de la altura del menisco en función del sexo.

**Tabla 4.11.** Descriptivos de la profundidad del menisco en función del sexo.

**Tabla 4.12.** Descriptivos del radio de curvatura del menisco en función del sexo.

**Tabla 4.13.** Descriptivos del ángulo de contacto del menisco en función del sexo.

**Tabla 4.14.** Descriptivos del área LIMA del menisco en función del sexo.

**Tabla 4.15.** Resumen de los resultados obtenidos de los parámetros del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Tabla 4.16.** Datos demográficos de la muestra 5.

**Tabla 4.17.** Descriptivos de la altura del menisco en función del grupo diagnóstico.

**Tabla 4.18.** Descriptivos de la profundidad del menisco en función del grupo diagnóstico.

**Tabla 4.19.** Descriptivos del radio de curvatura del menisco en función del grupo diagnóstico.

**Tabla 4.20.** Descriptivos del ángulo de contacto del menisco en función del grupo diagnóstico.

**Tabla 4.21.** Descriptivos del área LIMA del menisco en función del grupo diagnóstico.

**Tabla 4.22.** Resumen de los resultados obtenidos de los parámetros del menisco en función del grupo diagnóstico en la muestra 4.

## LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS

## Lista de Figuras

- Figura 1.1.** Dibujo que representa la unidad funcional lagrimal.
- Figura 1.2.** Fotografía del borde del párpado inferior de un sujeto joven normal (izquierda) y dibujo esquemático de las estructuras que lo componen (derecha).
- Figura 1.3.** Dibujo que representa la sección del párpado mostrando una glándula de Meibomio y el recorrido de la secreción.
- Figura 1.4.** Dibujo que representa la estructura tradicional de la película lagrimal.
- Figura 1.5.** Dibujo del menisco lagrimal.
- Figura 1.6.** Esquema del círculo fisiopatológico del ojo seco.
- Figura 1.7.** Esquema de la clasificación etiopatogénica del ojo seco.
- Figura 1.8.** Esquema de clasificación del ojo seco.
- Figura 1.9.** Esquema de clasificación de enfermedades de la glándula de Meibomio.
- Figura 1.10.** Esquema de la fisiopatología de la degeneración de las glándulas de Meibomio.
- Figura 1.11.** Dibujo esquemático del curso de alteraciones de las glándulas de Meibomio obstructiva.
- Figura 1.12.** Dibujo del cambio fisiológico que se produce en los procesos cicatriciales de las glándulas de Meibomio.
- Figura 1.13.** Esquema de pruebas recomendadas en el informe del subcomité de metodología de diagnóstico de ojo seco del TFOS DEWS II.
- Figura 1.14.** Fotografía de pliegues conjuntivales paralelos al párpado (LIPCOF) a la izquierda y conjuntivochalasis a la derecha.
- Figura 1.15.** Esquemas de gradación de enrojecimiento conjuntival.
- Figura 1.16.** Esquemas de gradación de pérdida de glándulas de Meibomio.
- Figura 1.17.** Dibujos que ilustran las distintas alteraciones de los orificios meibomianos y la unión mucó-cutánea.
- 
- Figura 3.1.** Resumen de elección y comparación muestra 1.
- Figura 3.2.** Resumen de elección y comparación muestra 2.
- Figura 3.3.** Resumen de elección y comparación muestra 3.
- Figura 3.4.** Resumen de elección muestra 4.
- Figura 3.5.** Resumen de elección muestra 5.

**Figura 3.6.** Imagen de la posición de captura empleada con tomografía de coherencia óptica.

**Figura 3.7.** A la izquierda, imagen ampliada como ejemplo de la tomografía del menisco lagrimal inferior, con el trazado de los parámetros necesarios para aplicar el método LIMA. A la derecha, dibujo similar del menisco mostrando los parámetros medidos y los obtenidos con el método LIMA.

**Figura 3.8.** Escalas de gradación Efron para enrojecimiento limbal (superior) y conjuntivitis papilar (inferior).

**Figura 3.9.** Escala de severidad de cinco niveles propuesta por Pult y Riede-Pult para la gradación de la pérdida de glándulas de Meibomio.

**Figura 3.10.** Esquema Oxford de gradación de teñidos en la superficie ocular.

**Figura 3.11.** Método de gradación de la secreción expresada por las glándulas de Meibomio.

**Figura 4.1.** Diagrama de cajas que representa la diferencia del área del meniscos entre el método LIMA y de referencia, para la medida de meniscos pequeños.

**Figura 4.2.** Diagrama de cajas que representa la diferencia del área del meniscos entre el método LIMA y de referencia, para la medida de meniscos grandes.

**Figura 4.3.** Representación del gráfico de Bland-Altman obtenido con SPSS, comparando el área sobre la muestra 1 del método LIMA y el de referencia.

**Figura 4.4.** Diagrama de cajas que representa el área del menisco obtenida por dos observadores diferentes sobre la muestra 2.

**Figura 4.5.** Diagrama de cajas que representa el área del menisco obtenida en dos medidas separadas 2-3 minutos por un mismo examinador sobre la muestra 3.

**Figura 4.6.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la altura del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Figura 4.7.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la profundidad del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Figura 4.8.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del radio de curvatura del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Figura 4.9.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Figura 4.10.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco por cada uno de los grupos de edad en los que se ha dividido la muestra 4.

**Figura 4.11.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la altura del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.12.** Histograma confrontado de la altura del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.13.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la profundidad del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.14.** Histograma confrontado de la profundidad del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.15.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del radio de curvatura del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.16.** Histograma confrontado del radio de curvatura del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.17.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.18.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco en función del sexo en la muestra 4, sin casos anómalos.

**Figura 4.19.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del área LIMA del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.20.** Histograma confrontado del área LIMA del menisco en función del sexo en la muestra 4.

**Figura 4.21.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la altura del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5.

**Figura 4.22.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la altura del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5, sin anómalos.

**Figura 4.23.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la profundidad del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5.

**Figura 4.24.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos de la profundidad del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5, sin anómalos.

**Figura 4.25.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del radio de curvatura del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5.

**Figura 4.26.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del radio de curvatura del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5, sin anómalos.

**Figura 4.27.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5.

**Figura 4.28.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del ángulo de contacto del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5, sin anómalos.

**Figura 4.29.** Diagrama de cajas que representa los resultados obtenidos del área LIMA del menisco en función del grupo diagnóstico de la muestra 5.

**Figura 5.1.** Gráficos de altura, profundidad y área del menisco, sobre sujetos con ojo seco acuodeficiente, lipodeficiente, síndrome de Sjögren y sanos.

**Figura 5.2.** Gráficas de curvas ROC para diferentes puntos de corte del área del menisco lagrimal, en sujetos acuodeficientes no síndrome de Sjögren, lipodeficientes y síndrome de Sjögren.

**Figura 5.3.** Imágenes de distintos tipos de tomografías que pueden encontrarse en la práctica clínica.

**Figura 5.4.** Imágenes tomográficas realizadas con dispositivos Stratus y Visante, para la medida de la altura del menisco lagrimal.

**Figura 5.5.** Imágenes tomográficas realizadas con dispositivo RTVue-100, para la medida de la altura, profundidad y área del menisco lagrimal.

**Figura 5.6.** Imágenes tomográficas realizadas con dispositivo RTVue-100, para la medida del área, altura y profundidad del menisco lagrimal.

**Figura 5.7.** Imágenes tomográficas realizadas con dispositivo RTVue-100, para la medida del área y la altura del menisco lagrimal.

**Figura 5.8.** Imágen tomográfica realizada con dispositivo RTVue-100, para la medida de la altura, profundidad, área, y ángulo del menisco lagrimal.

**Figura 5.9.** Imágen tomográfica realizada con dispositivo RTVue-100, para la medida de la altura, profundidad, área, y ángulo  $\alpha$  que forman la córnea y el menisco..

**Figura 5.10.** Imágen tomográfica realizada con dispositivo Visante, para la medida de la altura, área, y radio de curvatura del menisco lagrimal superior e inferior.

**Figura 5.11.** Imágenes tomográficas realizadas con dispositivos OCT2, RTVue-100 CAM-S y RTVue-100 CAM-L.

**Figura 5.12.** Esquema de clasificación de las escalas más utilizadas para la meibografi



## **ANEXOS**



## ANEXO I: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA

VNIVERSITAT  
E VALÈNCIA Vicerectorat  
d'Investigació i Política Científica

**D. José María Montiel Company**, Profesor Contratado Doctor Interino del departamento de Estomatología, y Secretario del Comité Ético de Investigación en Humanos de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València,

## CERTIFICA:

Que el Comité Ético de Investigación en Humanos, en la reunión celebrada el día 7 de septiembre de 2017, una vez estudiado el proyecto de tesis doctoral titulado:  
*“Valoración de los parámetros geométricos del menisco lagrimal mediante tomografía de coherencia óptica y su aplicación en el diagnóstico diferencial de ojo seco”*, número de procedimiento H1498907677602, cuyo responsable es D. Jaime Antonio Guerra Aparicio, dirigido por D. Santiago García Lázaro y D. Andrés Gené Sampedro, ha acordado informar favorablemente el mismo dado que se respetan los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y cumple los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética.

Y para que conste, se firma el presente certificado en Valencia, a quince de septiembre de dos mil diecisiete.



## ANEXO II: INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO



**CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO CLÍNICO SOBRE OJO SECO, A TRAVÉS DE LA MEDIDA DEL MENISCO LAGRIMAL CON TECNOLOGÍA OCT, INSTILACIÓN DE FLUORESCEÍNA, PRESIÓN DIGITAL DEL PÁRPADO, Y TEST DE SCHIRMER.**

En cumplimiento de la Normativa de Vancouver, es necesario que lea esta información antes de iniciar el estudio:

**Objetivo del estudio:** como parte de una Tesis Doctoral realizada para la Universidad de Valencia durante los años 2017-2021, este estudio tiene como objetivo investigar sobre ciertos aspectos relacionados con el Ojo Seco. Los beneficios que se esperan de este trabajo consistirán en el desarrollo de nuevas técnicas para el diagnóstico de esta enfermedad.

**Requisitos de inclusión:** se requiere información sobre su estado de salud, si ha sido diagnosticado de Ojo Seco o ha tenido algún tipo de enfermedad ocular, tratamiento farmacológico, o hábitos de vida que pudiesen estar relacionados con ello. También es necesaria la realización de diferentes pruebas clínicas y la toma de imágenes fotográficas de sus ojos.

**Procedimientos:** se pedirá en primer lugar a los participantes que realicen una encuesta sobre sus síntomas de sequedad, a través del test normalizado OSDI (Ocular Surface Disease Index), y un cuestionario de preguntas personales. Una vez completado se le realizará una revisión optométrica previa de su visión y salud visual. Se concluirá con la batería de pruebas para el estudio, que serán realizadas sólo en el ojo derecho: 5 fotografías del borde del párpado en diferentes zonas con AS-OCT; 2 fotografías con iluminación de hendidura y 2 fotografías infrarrojas del borde del párpado inferior; tras la instilación de Fluoresceína Sódica, mediremos el tiempo de ruptura lagrimal y se grabará un vídeo; realizaremos el test de Schirmer poniendo una tira de papel especial entre los párpados con los ojos cerrados durante 5 minutos; y finalizaremos observando los resultados de realizar presión sobre el párpado inferior durante 10 segundos. Este estudio se realizará en una única sesión con una duración máxima de 30 minutos, teniendo lugar éstas en el centro óptico autorizado **OPTIVISTA, NICA: 34.887**, sito en Glorieta de Andalucía 3 de Vélez-Málaga.

**Beneficios:** Se trata de un estudio de salud, por lo que al firmar este documento no espera beneficio económico ni actual ni futuro como consecuencia de su participación; el sometimiento a evaluación se realizará sin ánimo de lucro.

**Riesgos:** En lo referente a la toma de medidas, el procedimiento de reconstrucción tridimensional tomográfico que realiza la OCT es totalmente inocuo para el participando, tal como se demuestra en multitud de estudios previos de esta tecnología. Tan sólo la fotografía con flash que realiza, puede provocar un breve deslumbramiento.

## ANEXOS

La Fluoresceína Sódica es un marcador a modo de colorante fluorescente cuando es iluminado con luz azul, inocuo para los pacientes (aunque en algunos casos puede provocar picor leve). Su instilación es una prueba diagnóstica invasiva, pero sin ningún tipo de consecuencias para el paciente.

El Test de Schirmer sólo produce una leve molestia durante el porte de la tira de papel (como si tuviésemos una pestaña en el ojo), que desaparece al retirarla.

La presión digital del párpado inferior se realiza hasta el límite que no produzca dolor al paciente, y siempre y cuando se compruebe que no tiene riesgos asociados como glaucoma, miopías magnas ó problemas retinianos.

El resto de pruebas optométricas se realizan sin contacto y sin instilación de colirio alguno.

**Confidencialidad:** Toda la información e imágenes obtenidas serán consideradas confidenciales y serán usada sólo a efectos de investigación, tanto de la presente como en sucesivas relacionadas. Los datos obtenidos serán tratados según la Ley de protección de datos vigente (LO 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal), así como su adaptación a la normativa europea (RD 679/2016 de 14 de abril). El acceso a su información personal quedará restringido a los colaboradores de los que depende el estudio, quienes estarán sometidos al deber secreto inherente a su profesión, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos.

**Derecho a rehusar:** Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y es libre de tomar parte o no, o retirarse en cualquier momento durante el estudio, sin que ello tenga ninguna consecuencia. También podrá rectificar y cancelar sus datos si lo desea.

**Derecho de exclusión:** el autor del estudio tiene reservado el derecho a excluirle del estudio si considera que los requisitos de inclusión no se cumplen o dejan de hacerlo en algún momento.

**ACTO DE CONSENTIMIENTO:** 'Consiento en participar en este estudio y afirmo que toda la información que proporciono sobre mi persona es verídica'

Sólo deberá firmarlo si ha leído esta hoja de información, ha podido hacer las preguntas pertinentes al autor del estudio, Jaime Guerra Aparicio (OD, GOO, MSc, Col. 8.923) y comprende que su participación es voluntaria y puede suspenderla en cualquier momento.

Aunque el estudio se realizará en el establecimiento sanitario de óptica OPTIVISTA, esta entidad no se hace responsable de problemas derivados del mismo; en estos casos usted debe de ponerse en contacto con el investigador, en el propio centro o en el teléfono 952508026.

### **CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:**

D. /Dña.:

DNI:

Fecha:

Firma del paciente (o tutor legal)

## Acto de Revocación:

Por el envío del presente escrito a OPTIVISTA por medios convencionales (carta, correo electrónico,...) o por aviso telefónico con el responsable del estudio, Jaime Guerra Aparicio, el participando

D. /Dña.:

Con DNI ..... revoca el consentimiento prestado en la fecha ....., manifestando su deseo de no proseguir en el estudio referido anteriormente, dándolo por finalizado en la fecha .....

Firma del paciente (o tutor legal)

ANEXOS

**ANEXO III: FICHAS PACIENTES PARA RECOGIDA DE DATOS**

Nº Identificación _____		Sexo _____	Edad _____	Hora _____	Fecha _____
HÁBITOS:	LC Últimos 6 meses	Trabajo	Fumador (5 ó más)	Actividad física semanal	Disposit. electo. día
	SI / NO	Ext. / Int. / Climat.	SI / NO	_____ horas	_____ horas
ENFERMEDADES:	Hipertensión	Artritis reumatoide	Sarcoidosis	Acné Rosácea	Atopia
Diabetes: 1 / 2 ___ años	Ictiosis	Lupus	Sínd. Stevens-Johnson	Psoriasis	Dermatitis seborreica
	Enfermedad tiroides	Hiperplasia prostática	Sequedad bucal	Dificultades deglución	Parálisis Faciales
MEDICACIÓN:	Embarazo	Anticonceptivos	Tranquilizantes	Antidepresivos	Antipsicóticos
	Diuréticos	Anticoagulantes	Apnea de Sueño (CPAC)	Glaucoma:	Fármaco: _____
Traumatismos oculares	Ptoxis superior	Diagnostico previo DED	Sínd. Sjogren - MGD	Tratamiento: _____	_____
ENFERMEDADES OJO:	Herpes	Tracoma	Úlceras recidivantes	Ectasias corneales	
	Orzuelos	Blefaritis	Conjuntivitis	Queratitis	
	Conjuntivitis alérgica	Pterigium (+1mm)	Pingüeculas	<i>Conjuntivochalasis</i>	
CIRUGÍA OCULAR:	Trasplante cornea	Cataratas	LIOs	Refractiva: PRK /LASIK	Glaucoma: Irid./Trab.
	Párpado	Vías lagrimales	Tapón lagrimal	Cross-linking	

OSDI																%
AS-OCT	Medida central				Medida nasal				Medida temporal				LIPCOF (0-3)			
	A:	B:	C:	L:	A:	B:	C:	L:	A:	B:	C:	L:	Nasal:	Temporal:		
Biomicroscopía	Blefaritis seborreica				Conjuntivitis alérgica. (3 Signos>2)											
	Collarettes	Triquiasis	Madarosis	Enrojec. conjun. EFRON:				Enrojec. limbo. EFRON:				CPG. EFRON:				
	MGD obstructiva. (+2signos) N° de signos:											Meibografía	Foto			
	Teleangiectasias		Borde irregular	Desplazamiento MCJ	Alteración orificio GM		Puntuación (0-5):									
Fluorescencias	FBUT medio:			Puntuación Oxford (0-15):				Schirmer		Meibo						
Vídeo	1:	2:	3:	Cornea:	Conj. nasal:	Conj. temp:	_____ mm		Expres:	Calidad:						

## ANEXO IV: CUESTIONARIO OSDI

¿Ha experimentado alguna de las siguientes alteraciones durante la última semana?

A. SÍNTOMAS FÍSICOS	En todo momento	Casi en todo el tiempo	En el 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	
1.Sensibilidad a la luz	4	3	2	1	0	No sé
2.Sensación de arenilla en los ojos	4	3	2	1	0	No sé
3.Dolor de ojos	4	3	2	1	0	No sé
4.Visión borrosa	4	3	2	1	0	No sé
5. Mala visión.	4	3	2	1	0	No sé

¿Ha tenido problemas en los ojos que le han limitado o impedido realizar alguna de las siguientes acciones durante la última semana?

B. ACTIVIDADES DIARIAS	En todo momento	Casi en todo el tiempo	En el 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	
6. Leer	4	3	2	1	0	No sé
7. Conducir de noche	4	3	2	1	0	No sé
8. Trabajar con un ordenador o utilizar un cajero automático.	4	3	2	1	0	No sé
9. Ver la televisión.	4	3	2	1	0	No sé

¿Ha sentido incomodidad en los ojos en alguna de las siguientes situaciones durante la última semana?

C. FACTORES AMBIENTALES	En todo momento	Casi en todo el tiempo	En el 50% del tiempo	Casi en ningún momento	En ningún momento	
10. Viento	4	3	2	1	0	No sé
11. Lugares con baja humedad (muy secos)	4	3	2	1	0	No sé
12. Zonas con aire acondicionado.	4	3	2	1	0	No sé

Nota: En esta imagen se representa el cuestionario y las puntuaciones correspondientes en función de las respuestas del test OSDI. En el presente trabajo se ha utilizado una versión online con cálculo automático del índice OSDI en la dirección: <http://www.oftagalía.es/es/pruebas-online/test-osdi-ojo-seco>



## ANEXO V: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PARAMETROS DEL MENISCO EN SUJETOS SANOS

SUJETOS SANOS											
Autor	Año	AS-OCT	n	Ratio Hombres/ Mujeres	Edad Media ± SD (Rango)	TMH (µm) Media ± SD	TMA (µm <sup>2</sup> ) Media ± SD	1.343 ?	TMV (µL) Media ± SD	TMD (µm) Media ± SD	TMR (µm) Media ± SD
Savini, Barboni y Zanini	2006	TD-OCT	20			250 ± 80					
Wang et al.	2006	TD-OCT (CM)	20	0.54	40.5 ± 14.1 (NA)	258.8 ± 77.2	23999.5 ± 15179.5				259.7 ± 153.0
Shen et al.	2008	FD-OCT (Custom made real-time)	47	0.96	38.5 ± 12.7 (18 - 75)	196 ± 23	15927 ± 4431	(NA)			251 ± 48 (OD)
Savini et al.	2009	TD-OCT (Visante)				280 ± 120					
		TD-OCT (Stratus)				230 ± 70					
Chen et al.	2009	TD-OCT (CM)	20	0.25	22.6 ± 2.3 (20-36)	251 ± 36		(NA)	0.55 ± 0.22		
Zhou et al.	2009	FD-OCT (RTVue)	20	0.82	37.3 ± 8.3 (20-53)	290 ± 80	27000 ± 15000	Si		210 ± 60	
		TD-OCT (OCT2)	50	0.47	33.2 (19-62)	280 ± 139					
Keech, Flanagan, Simpson y Jones	2009	FD-OCT (RTVue CAM-S)	50	0.47	33.2 (19-62)	354 ± 163					
		FD-OCT (RTVue CAM-L)	50	0.47	33.2 (19-62)	345 ± 167					
Ibrahim et al.	2010	TD-OCT (Visante)	27	0.8	56.04 ± 14.22 (NA)	400 ± 170	3414 ± 1715	(NA)			
			20	0.33	14 ± 3.13 (NA)	395.3 ± 110.5	61900.0 ± 34955.1			252.7 ± 74.9	
			60	0.54	28.73 ± 5.61 (20-39)	316 ± 80.8	40266.7 ± 19797.3			208.5 ± 51.2	
Qiu, Gong, Sun, y Jin	2011	FD-OCT (RTVue)	60	0.54	50.65 ± 6.05 (40-59)	298.2 ± 105.6	40333.3 ± 31341.3			210.8 ± 72.4	
			20	0.43	> 60 (NA)	279.8 ± 100.3	37283.3 ± 29922.6			196.9 ± 81.6	
Czajkowski et al.	2012	FD-OCT (RTVue)	56	(NA)	(NA)	342.2 ± 109.2	46200 ± 20000	(NA)		168.53 ± 50.78	
Fukuda et al.	2013	SS-OCT (SS-1000)	26	3.33	36.5 ± 6.8 (NA)	256 ± 57	21903 ± 8173	Si	0.1327 ± 0.051		
Tung et al.	2014	FD-OCT (RTVue-100)	33	2.17	51 (19-82)	342.9 ± 181.1	62100 ± 134000				
Akiyama, Tomohiko y Satoru	2015	SS-OCT (SS-1000)	26	(NA)	(NA)	260.5 ± 56.6	22544 ± 8138	Si	0.0735 ± 0.0328		
Chang, Zhao y Tong	2015	TD-OCT Visante®	20	1.44	22 (21 - 60)	332 ± 71	35505 ± 10997				
Chang, Zhao y Tong	2015	FD-OCT Cirrus®	20	1.44	22 (21 - 60)	338 ± 96	25283 ± 11144				
Arriola-Villalobos et al.	2015	FD-OCT (Spectralis)	29	0.7	34.28 ± 9.24 (25-60)	245.84 ± 67.18					

## ANEXO VI: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PARAMETROS DEL MENISCO EN SUJETOS CON OJO SECO

		SUJETOS DED										
Autor	Año	AS-OCT	n	Criterio DED	Ratio Hombres/ Mujeres	Edad (años) Media±SD (Rango)	TMH (µm) Media ± SD	TMA (µm <sup>2</sup> ) Media ± SD	TMV (µL) Media ± SD	TMD (µm) Media ± SD	TMR (µm) Media ± SD	
Savini, Barboni y Zanini	2006	TD-OCT	27				130 ± 70					
Shen et al.	2008	FD-OCT (Custom made real-time)	48	ADDE	0.41	38.6 ± 13.2 (18-74)	143 ± 24	9492 ± 3010			153 ± 33	
Chen et al.	2009	TD-OCT (CM)	20	Japones	0.33	25.8 ± 6.5 (20-31)	192 ± 29		0.28 ± 0.09			
Zhou et al.	2009	FD-OCT (RTVue)										
Ibrahim et al.	2010	TD-OCT (Visante)	24	Japones	0.33	63.14 ± 13.4	250 ± 80	1840 ± 909				
			6		2	13.00 ± 4.69	239.9 ± 45.2	24000.0 ± 9368.2		162.6 ± 16.2		
			60		0.5	28.93 ± 6.12	258.0 ± 92.3	27711.1 ± 21329.8		165.4 ± 69.9		
Qiu, Gong, Sun, y Jin	2011	FD-OCT (RTVue)	60		0.20	52.13 ± 4.80	215.3 ± 92.5	21572.2 ± 18411.6		143.3 ± 65.8		
			20		0.18	>60	210.6 ± 112.1	22633.3 ± 22516.0		144.0 ± 80.6		
Czajkowski et al.	2012	FD-OCT (RTVue)	13		(NA)	(NA)	202.11 ± 78.55	20000 ± 10000		144.19 ± 42.43		
			NA		(NA)	(NA)	234 ± 39					
			NA	ADDE No SS	(NA)	64.7 (NA)	210 ± 38					
Tung et al.	2014	FD-OCT (RTVue-100)	NA	SS	(NA)	65.5 (NA)	171 ± 28					
			23	MGD	0.18	57 (25-85)	302 ± 89					
Akiyama, Tomohiko y Satoru	2015	SS-OCT (SS-1000)	24	Japones	(NA)	(NA)	183.5 ± 50.4	12459 ± 4875	0.047 ± 0.0125			

## ANEXO VII: RESUMEN DE BIBLIOGRAFÍA SOBRE PUNTOS DE CORTE EMPLEADOS Y FIABILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE OJO SECO

Autor	Tipo/Criterio DED	TMH				TMA				TMV				TMD				TMR			
		Valor de corte (µm)	Sensib.	Especif.	AUC ROC	Valor de corte (µm <sup>2</sup> )	Sensib.	Especif.	AUC ROC	Valor de corte (µL)	Sensib.	Especif.	AUC ROC	Valor de corte (µm)	Sensib.	Especif.	AUC ROC	Valor de corte (µm)	Sensib.	Especif.	AUC ROC
Wang, Liu, et al.	? No artículo	213	0.778	0.717														182	0.92	0.87	0.95
Shen et al.*	ADDE	164	0.92	0.90		11637	0.85	0.78	0.90												
Ibrahim et al.	Japones	300	0.67	0.81	0.82																
Qiu et al.	ADDE No SS	248.333			0.6939	24000	0.610	0.770	0.6961					164.000			0.7110				
	EDE	256			0.4962	45666.670	0.780	0.320	0.5399					142.333			0.5279				
Akiyama, Tomohiko y Satomi*	SS	141.333			0.9650	13333.333	0.870	0.940	0.9637					130333			0.9706				
	Japones	191	0.67	0.88		12360	0.620	0.920		0.0473	0.63	0.81									
Czajkowski et al.*	OSDI>10.4																				
	Schimer I (CA)<5 TBU/T<10		0.8056	0.8933	0.849		0.861	0.853	0.857							0.7778	0.5270	0.626			





