

**AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO
DEL SÍNDROME DE OJO SECO.
PATRONES LIPÍDICOS
INTERFERENCIALES**

Fdo.:.....
Carlos García Resúa

**PROGRAMA DE DOUTORAMENTO
EN MEDICINA MOLECULAR
FACULTADE DE ÓPTICA E OPTOMETRÍA**



AUTORIZACIÓN DA DIRECTORA DA TESE

Dna. Eva Yebra-Pimetel Vilar, Profesora do Departamento de Física aplicada como Directora da Tese de Doutoramento titulada:

«AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME OJO SECO.
PATRONES LIPÍDICOS INTERFERENCIALES»

Presentada por D. Carlos García Resua, alumno do Programa de Doutoramento en Medicina Molecular

Autorizamo a presentación da tese indicada, considerando que reúne os requisitos esixidos no artigo 34 do regulamento de Estudos de Doutoramento, e que como Directora da mesma non incurre nas causas de abstención establecidas na lei 30/1992.

Asdo
Eva Yebra-Pimentel Vilar



AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Eva Yebra-Pimentel, por darme la oportunidad no sólo de realizar esta Tesis Doctoral, si no por apoyarme incansablemente todos estos años desde que comencé a hacer carrera investigadora. Su apoyo inestimable y su dedicación al proyecto de la Optometría ha permitido la consecución de esta Tesis.

De la misma forma, a la Doctora María Jesús Giráldez, que con el mismo ahínco que la Doctora Yebra-Pimentel ha trabajado incansablemente en este proyecto, y siempre ha estado disponible cuando requería su colaboración.

A Hugo Pena Verdeal, compañero de fatigas, colega de profesión, trabajador incansable que siempre se saca de la manga un comentario positivo. Gracias por tu inestimable ayuda, amigo “*nigromante*”.

A Mercedes Miñones Conde, con quien compartí despacho en estos años, gracias por tu comprensión, apoyo y ayuda de todo corazón.

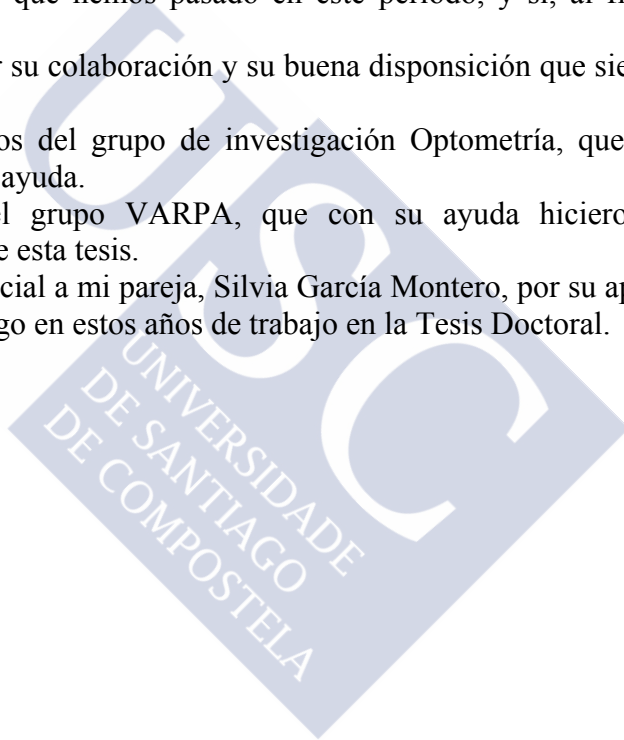
A mi compañera de fatigas Covadonga Vázquez Sánchez, por todos los buenos y menos buenos momentos que hemos pasado en este periodo, y sí, al final lo hemos conseguido.

A Madalena Lira, por su colaboración y su buena disposición que siempre tuvo en este trabajo.

A todos los miembros del grupo de investigación Optometría, que siempre han estado ahí para ofrecer su ayuda.

A los miembros del grupo VARPA, que con su ayuda hicieron posible la realización de una parte de esta tesis.

Y de forma muy especial a mi pareja, Silvia García Montero, por su apoyo, ayuda y paciencia que tuvo conmigo en estos años de trabajo en la Tesis Doctoral.





“No os diré: no lloreis; porque no todas las lágrimas son amargas”
J. R. R. Tolkien (1892-1973) Escritor británico.





RESUMEN

El diagnóstico del Síndrome Ojo Seco (SOS) es complejo debido a su etiología multifactorial y a la importante variabilidad que muestran los tests clínicos. La subjetividad de dichos test es la principal responsable de su amplia variabilidad. Además, hay pruebas clínicas importantes que no se realizan debido a su gran dificultad y subjetividad. El estudio de la capa lipídica de la película lagrimal (PL), mediante el examen del patrón lipídico interferencial (PLI), es una prueba muy útil que debería ser imprescindible en el diagnóstico del SOS Evaporativo. Sin embargo, es difícil de interpretar y muy subjetiva.

El objetivo principal de esta tesis es objetivizar el estudio la capa lipídica de la PL. Se evalúa la repetibilidad de la categorización subjetiva de los PLIs y se presentan los resultados de una nueva aplicación informática que permite evaluar automáticamente el PLI. Asimismo, se muestra una nueva plataforma web que permite obtener una base de datos con imágenes de PLIs en concordancia con cuatro clínicos expertos. Los resultados mostraron que la aplicación automática puede valorar los PLIs de forma similar a los observadores experimentados.

Asimismo, como los lípidos meibomianos son los principales responsables de la capa lipídica de la PL se estandariza la medición de los mismos mediante el estudio de la meibometría.

Finalmente, dado que la medida de la osmolaridad de la PL es la prueba “Gold Standard” en el diagnóstico del SOS, y la altura del menisco lagrimal (TMH) es una prueba no invasiva de la valoración del volumen lagrimal; se estudió la medida de la osmolaridad mediante la técnica de impedancia eléctrica (TearLab) y la TMH mediante técnicas de imágenes. Los resultados mostraron que la osmolaridad TearLab, a pesar de mostrar una alta variabilidad, se correlacionó significativamente con la TMH, sobre todo en pacientes sintomáticos de mayor edad.

Palabras clave: Película lagrimal, Capa lipídica, Patrón lipídico interferencial, Meibometría, Osmómetro TearLab, Altura del menisco lagrimal, Síndrome de Ojo seco.

RESUMO

O diagnóstico do Síndrome Olló Seco (SOS) é complexo debido á súa etioloxía multifactorial e á importante variabilidade que mostran os tests clínicos. A subxectividade dos devanditos tests é a principal responsable da súa ampla variabilidade. Ademais, hai probas clínicas importantes que non se realizan debido á súa gran dificultade e subxectividade. O estudo da capa lipídica da película lagrimal (PL), mediante o exame do patrón lipídico interferencial (PLI), é unha proba moi útil que debería ser imprescindible no diagnóstico do SOS Evaporativo. Con todo, é difícil de interpretar e moi subxectiva.

O obxectivo principal desta tese é obxectivizar o estudo da capa lipídica da PL. Avaliáase a repetibilidade da categorización subxectiva dos PLIs e preséntanse os resultados dunha nova aplicación informática que permite avaliar automaticamente o PLI. Así mesmo, móstrase unha nova plataforma web que permite obter unha base de datos con imaxes de PLIs en concordancia con catro clínicos expertos. Os resultados mostraron que a aplicación automática pode valorar os PLIs de forma similar aos observadores experimentados.

Así mesmo, como os lípidos meibomianos son os principais responsables da capa lipídica da PL estandarízase a medición dos mesmos mediante o estudo da meibometría.

Finalmente, dado que a medida da osmolaridade da PL é a proba “Gold Standard” no diagnóstico do SOS, e a altura do menisco lagrimal (TMH) é unha proba non invasiva da valoración do volume lagrimal; estudouse a medida da osmolaridade mediante a técnica de impedancia eléctrica (TearLab) e a TMH mediante técnicas de imaxes. Os resultados mostraron que a osmolaridade TearLab, a pesar de mostrar unha alta variabilidade, correlacionouse significativamente coa TMH, sobre todo en pacientes sintomáticos de maior idade.

Palabras clave: Película lagrimal, Capa lipídica, Patrón lipídico interferencial, Meibometría, Osmómetro TearLab, Altura do menisco lagrimal, Síndrome de Olló seco.

ABSTRACT

Dry eye syndrome (DES) is complex due to its multifactorial etiology and the significant variability in the clinical tests. Such subjectivity is the main source of its wide variability. In addition, there are essential clinical trials that are not usually performed because of its great difficulty and subjectivity. The study of the lipid layer of the tear film (TF), by examining the interferential lipid pattern (LLP), is a very useful test that should be essential in the diagnosis of Evaporative DES. However, it is difficult to interpret and very subjective.

The main purpose of this thesis is to objective the study of the TF lipid layer. Repeatability of LLP categorization is evaluated and the results of a new software application that automatically assess the LLP are presented. Also, a new web that contains a database of LLP images in accordance with four clinical experts is showed.

The results showed that the automatic application can assess LLP similar to experienced observers.

Also, as meibomian lipids are primarily responsible for the TF lipid layer of the PL, standarization of its mesaurement is performed by meibometry.

Finally, since TF osmolarity it is the "Gold Standard" in DES diagnosis, and tear meniscus height (TMH) is a non-invasive assessment of tear volume; TF osmolarity was studied by electrical impedance technique (TearLab) and TMH by imaging techniques. The results showed that the TearLab osmolarity, despite showing high variability were significantly correlated with TMH, especially in symptomatic older patients.

Palabras clave: Tear Film, Lipid layer, Interferential lípid layer pattern, Meibometry, TearLab osmometer, Tear meniscus height, Dry eye syndrome.





ÍNDICE

1	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	1
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	7
3	INTRODUCCIÓN	13
3.1	Película lagrimal	15
3.1.1	Estructura de la Película Lagrimal	17
3.1.1.1	Capa lipídica	18
3.1.1.2	Capa acuosa	18
3.1.1.3	Capa mucínica	19
3.1.2	Composición de la Película Lagrimal	19
3.1.2.1	Capa lipídica	19
3.1.2.2	Capa acuosa	20
3.1.2.3	Capa mucínica	21
3.1.3	Funciones de la Película lagrimal	22
3.1.3.1	Función óptica.	22
3.1.3.2	Función lubricante	22
3.1.3.3	Función humectante	22
3.1.3.4	Función de limpieza.	22
3.1.3.5	Función antimicrobiana	22
3.1.3.6	Función inmunológica.	22
3.1.3.7	Función metabólica.	23
3.2	Síndrome de Ojo Seco	23
3.2.1	Etiopatogenia del síndrome de ojo seco.	25
3.2.2	Semiología	26
3.2.3	Epidemiología	27
3.2.4	Morbilidad del ojo seco	29
3.2.5	Ojo seco en la función visual y calidad de vida.	30
3.2.6	Impacto económico del Síndrome de ojo seco.	30
3.3	Examen de la película lagrimal. Pruebas diagnósticas	32
3.3.1	Evaluación de los síntomas	32
3.3.2	Examen con lámpara de hendidura	32
3.3.3	Evaluación objetiva del ojo seco.	34
3.3.3.1	Tests de secreción o cuantitativos.	35
3.3.3.2	Tests de estabilidad o cualitativos.	36
3.3.3.3	Pruebas de laboratorio	38
3.3.4	Examen del patrón lipídico interferencial	40
3.3.4.1	Reflexión especular	40
3.3.4.2	Fenómeno de interferencia: interpretación de las observaciones.	41
3.3.4.3	Tearscope – Plus®	43
3.3.4.4	Clasificación de los PLIs con el Tearscope.	44
3.3.5	Osmolaridad de la película lagrimal	46
3.3.5.1	Técnicas para medir la osmolaridad	46
3.3.5.1.1	Medición del descenso crioscópico o de descenso del punto de congelación.	47
3.3.5.1.2	Medición de presión de vapor.	48
3.3.5.1.3	Medida de la impedancia eléctrica.	49
3.3.5.2	Estudio de la osmolaridad en el diagnóstico de SOS.	50
3.3.6	Otras pruebas para la evaluación de la película lagrimal estudiadas en esta tesis.	51

3.3.6.1	Cuestionarios estandarizados de síntomas.....	51
3.3.6.1.1	Cuestionario de McMonnies.....	51
3.3.6.1.2	Ocular Surface Disease Index (OSDI)	52
3.3.6.2	Meibometría	52
3.3.6.3	Altura del menisco lagrimal.	55
3.3.6.3.1	Técnicas utilizadas para la determinación de la TMH.	57
3.3.6.3.2	Parámetros para medir la TMH con lámpara de hendidura.....	57
3.3.6.3.3	Valoración subjetiva del menisco lagrimal.	58
3.3.6.3.4	Valor normal de la TMH	58
4	MATERIAL Y MÉTODOS	61
4.1	Sujetos	63
4.2	Protocolo de pruebas realizadas	64
4.2.1	Osmolaridad Tear Lab	64
4.2.2	Meibometro MB 550	65
4.2.3	Cuestionarios estandarizados de síntomas.....	67
4.2.3.1	Cuestionario McMonnies	67
4.2.3.2	Cuestionario OSDI	67
4.2.4	Técnicas de evaluación de la película lagrimal con lámpara de hendidura... 68	
4.2.4.1	Evaluación de los patrones lipídicos interferenciales.....	68
4.2.4.1.1	Tamaño de los PLIs.	69
4.2.4.1.2	Iluminación de los PLIs.....	70
4.2.4.1.3	Tamaño e iluminación de los PLIs.	70
4.2.4.1.4	Características y procesamiento de las imágenes obtenidas del PLI.	71
4.2.4.2	Altura del menisco lagrimal	71
4.2.4.2.1	Adquisición del menisco lagrimal inferior con el Tearscope Plus como sistema de observación.....	72
4.2.4.2.2	Adquisición del menisco lagrimal inferior con lámpara de hendidura como sistema de observación.....	72
4.2.4.3	Características y procesamiento de las imágenes obtenidas del menisco lagrimal.....	74
4.2.4.3.1	Valoración objetiva del menisco	74
4.2.4.3.2	Evaluación subjetiva del menisco.....	77
4.3	Análisis estadístico	78
4.3.1	Estadísticos descriptivos.....	78
4.3.2	Estudio de la correlación entre variables.....	78
4.3.3	Estudio de la diferencia entre variables.....	78
4.3.4	Análisis de Bland y Altman.....	79
5	RESULTADOS	81
5.1	Estudio de la capa lipídica de la película lagrimal	83
5.1.1	Repetibilidad intersesión del análisis subjetivo del patrón lipídico interferencial.....	83
5.1.1.1	Procedimiento experimental	83
5.1.1.2	Resultados.....	84
5.1.1.2.1	Categorización realizada por el mismo observador entre dos sesiones (análisis intraobservador)	84
5.1.1.2.2	Comparación entre la categorización entre los dos observadores (análisis interobservador)	87
5.1.2	Nueva aplicación informática para el análisis objetivo del patrón lipídico interferencial.....	90

5.1.2.1 Procedimiento experimental.....	90
5.1.2.1.1 Descripción de la nueva aplicación objetiva para la evaluación de los patrones.....	91
5.1.2.1.2 Validación de la técnica.....	92
5.1.2.2 Resultados.....	93
5.1.2.2.1 Clasificación clínica de Korb	93
5.1.2.2.2 Estudio de los patrones Marmóreo Abierto y Marmóreo Cerrado..	97
5.1.3 Nueva aplicación web que incluye: (1) base de datos de imágenes de patrones lipídicos interferenciales (2) análisis objetivo del patrón lipídico interferencial por zonas.....	101
5.1.3.1 Procedimiento experimental.....	101
5.1.3.1.1 Clasificación de patrones. Concordancia entre cuatro observadores experimentados.....	102
5.1.3.1.2 iDEAS.....	102
5.1.3.2 Resultados.....	103
5.1.3.2.1 Categorización subjetiva de los PLIs.....	103
5.1.3.2.2 Patrones intermedios.....	108
5.1.3.2.3 Validación del sistema automático de análisis del PLI por zonas.....	112
5.2 Estudio de la secreción del lípido meibomiano mediante la meibometría	115
5.2.1 Correlación de la meibometría con la sintomatología de ojo seco.....	115
5.2.1.1 Procedimiento experimental.....	115
5.2.1.2 Resultados.....	116
5.2.1.2.1 Análisis de la meibometría entre los subgrupos estratificados por el cuestionario OSDI.....	117
5.2.1.2.2 Análisis de la meibometría entre los subgrupos estratificados por el cuestionario McMonnies.....	118
5.3 Osmolaridad y menisco lagrimal.....	120
5.3.1 Estudio de la repetibilidad del osmómetro Tear Lab.....	120
5.3.1.1 Procedimiento experimental.....	120
5.3.1.1.1 Estudio in vitro usando muestras estándar	120
5.3.1.1.2 Estudio in vivo usando muestras de lágrimas reales.....	121
5.3.1.2 Resultados.....	121
5.3.1.2.1 Precisión de las medidas del osmómetro TearLab en muestras estándar con valores conocidos (estudio in vitro)	121
5.3.1.2.2 Repetibilidad Intersesión de las medidas de osmolaridad realizadas en lágrimas humanas (estudio in vivo).....	121
5.3.2 Estudio de los parámetros del menisco lagrimal	124
5.3.2.1 Procedimiento experimental.....	124
5.3.2.1.1 Selección de las imágenes de menisco lagrimal.....	124
5.3.2.1.2 Valoración objetiva del menisco	125
5.3.2.1.3 Evaluación subjetiva del menisco.....	125
5.3.2.2 Resultados.....	125
5.3.2.2.1 Comparación entre la altura central absoluta y refleja y entre técnicas de iluminación.....	126
5.3.2.2.2 Comparación entre parámetros del menisco central, nasal y temporal.....	127
5.3.2.2.3 Evaluación subjetiva del menisco lagrimal.....	130
5.3.3 Correlación entre la osmolaridad de impedancia eléctrica (Tear Lab) y la altura del menisco lagrimal en relación a la sintomatología	135
5.3.3.1 Procedimiento experimental.....	135

5.3.3.2	Resultados.....	135
5.3.3.2.1	Muestra general del estudio.....	136
5.3.3.2.2	Estratificación por edad.....	138
5.3.3.2.3	Estratificación por síntomas.....	142
6	DISCUSIÓN.....	147
6.1	Estudio de la capa lipídica de la Película lagrimal.....	149
6.1.1	Repetibilidad intersesión del análisis subjetivo del patrón lipídico interferencial.....	149
6.1.2	Nueva aplicación informática para el análisis objetivo del patrón lipídico interferencial.....	151
6.1.3	Nueva aplicación web que incluye: (1) base de datos de imágenes de patrones lipídicos interferenciales (2) análisis objetivo del patrón lipídico interferencial por zonas.....	153
6.2	Estudio de la secreción lipídica mediante la meibometría.....	156
6.2.1	Correlación de la meibometría con la sintomatología de ojo seco.....	156
6.3	Osmolaridad y menisco lagrimal.....	158
6.3.1	Estudio de la repetibilidad del osmómetro Tear Lab.....	158
6.3.2	Estudio de los parámetros del menisco lagrimal.....	160
6.3.3	Correlación entre la osmolaridad de impedancia eléctrica (Tear Lab) y la altura del menisco lagrimal en relación a la sintomatología.....	165
7	CONCLUSIONES.....	169
8	PERSPECTIVAS DE FUTURO.....	173
9	PUBLICACIONES.....	177
9.1	Proyectos de investigación.....	179
9.2	Capítulos de libro.....	179
9.3	Artículos.....	179
9.4	Proceedings.....	180
9.5	Comunicaciones a congresos.....	181
10	BIBLIOGRAFÍA.....	183
11	ANEXOS.....	199

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Correspondencia del color del patrón de interferencia con el espesor de la capa lipídica de la PL.....	43
Tabla 2. Valores de la altura del menisco lagrimal encontrados por distintos autores. TMH-A: Altura del Menisco Lagrimal Absoluta. TMH-R: Altura del Menisco Lagrimal hasta el Reflejo.	59
Tabla 3. Descripción de la clasificación subjetiva del menisco basada en Khurana et al ²⁰⁰ y García-Resúa et al ³⁸	77
Tabla 4. Correlación de la categorización de los patrones realizada entre las dos sesiones separadas un mes para cada observador.	84
Tabla 5. Porcentaje de coincidencias en la categorización realizada por el Observador 1 entre las dos sesiones.....	85
Tabla 6. Porcentaje de coincidencias en la categorización realizada por el Observador 2 entre las dos sesiones.....	86
Tabla 7. Correlación entre la categorización de los patrones realizada por los dos observadores. Se compararon los resultados entre ellos tanto en la primera sesión como en la segunda.	87
Tabla 8. Comparación de la categorización de los patrones entre el Observador 1 y el Observador 2 en la primera sesión.	88
Tabla 9. Comparación de la categorización de los patrones entre el Observador 1 y el Observador 2 en la segunda sesión.....	89
Tabla 10. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el <i>software (nueva aplicación)</i> , el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> con el <i>examinador referente</i> cuando clasifican el patrón Marmóreo.	93
Tabla 11. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el <i>software (nueva aplicación)</i> , el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> con el <i>examinador referente</i> cuando clasifican el patrón Fluido.....	94
Tabla 12. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el <i>software (nueva aplicación)</i> , el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> con el <i>examinador referente</i> cuando clasifican el patrón Coloreado.	94
Tabla 13. Porcentaje de coincidencias entre el <i>software</i> y el <i>observador 1</i> para cada clasificación.....	95
Tabla 14. Porcentaje de coincidencias entre el <i>software</i> y el <i>observador 2</i> para cada clasificación.....	96
Tabla 15. Porcentaje de coincidencias entre el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> para cada clasificación.....	97
Tabla 16. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el <i>software (nueva aplicación)</i> , el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> con el <i>examinador referente</i> cuando clasifican el patrón Marmóreo Abierto.	98
Tabla 17. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el <i>software (nueva aplicación)</i> , el <i>observador 1</i> y el <i>observador 2</i> con el <i>examinador referente</i> cuando clasifican el patrón Marmóreo Cerrado.	98
Tabla 18. Porcentaje de coincidencias entre el <i>software</i> y el <i>observador 1</i> cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.....	99
Tabla 19. Porcentaje de coincidencias entre el <i>software</i> y el <i>observador 2</i> cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.....	100
Tabla 20. Porcentaje de coincidencias entre el <i>software</i> y el <i>observador 2</i> cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.....	100

Tabla 21. Número de zonas con una concordancia entre los 4 observadores después de evaluar los 50 patrones.	103
Tabla 22. Estadísticos descriptivos (n = 138). DE: Desviación estándar. IQR: Rango intercuartil.....	116
Tabla 23. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por OSDI en dos grupos. DE: Desviación estándar.	117
Tabla 24. Estadísticos descriptivos y diferencias (ANOVA de un factor) para la meibometría entre sujetos estratificados por OSDI en tres grupos. DE: Desviación estándar.....	118
Tabla 25. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por McMonnies en dos grupos. DE: Desviación estándar.	119
Tabla 26. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por McMonnies en tres grupos. DE: Desviación estándar.	119
Tabla 27. Valores proporcionados por los fabricantes de las soluciones de referencia. Las unidades se especifican (mOsm/kg o mOsm/L) en la guía del producto.....	120
Tabla 28. Estadísticos descriptivos y diferencias (valores obtenidos – valores esperados) de la osmolaridad obtenida con el TearLab con muestras de referencia para n = 20 medidas. DE = desviación estándar.....	121
Tabla 29. Estadísticos descriptivos de los valores de osmolaridad (mOsm/L) medidos con el TearLab TM obtenidos en n=50 sujetos en cada sesión. DE = desviación estándar.	122
Tabla 30. Prueba-t para muestras relacionadas para la diferencias de los valores de osmolaridad obtenidas con el TearLab entre ambas sesiones de medida. DE = desviación estándar. IC 95% = Intervalos del 95% de confianza.....	122
Tabla 31. Estadísticos descriptivos de los tres métodos medidos (mm). DE: Desviación Estándar. n = 121. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.....	125
Tabla 32. Prueba-t para muestras relacionadas entre las variables que miden el menisco en su posición central (mm). DE: Desviación Estándar. n = 121. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.	126
Tabla 33. Prueba-t para muestras relacionadas entre las variables que miden el menisco en su posición nasal y temporal con lámpara de hendidura (mm). Desviación Estándar. n = 121. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de	

hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura. 128

Tabla 34. Valores promedio de la TMH encontrados para cada uno de los grupos subjetivos con las imágenes adquiridas con lámpara de hendidura (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope. 130

Tabla 35. Parámetros de la TMH agrupados en meniscos sanos y anormales según la clasificación subjetiva con las imágenes adquiridas con lámpara de hendidura (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope. 132

Tabla 36. Valores promedio de la TMH encontrados para cada uno de los grupos subjetivos con las imágenes adquiridas con Tearscope Plus (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope. 133

Tabla 37. Parámetros de la TMH agrupados en meniscos sanos y anormales según la clasificación subjetiva con las imágenes adquiridas con el Tearscope-Plus (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope. 134

Tabla 38. Estadísticos descriptivos. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin

dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil. n = 177..... 136

Tabla 39. Estadísticos descriptivos para los grupos estratificados por rango de edad. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil. 138

Tabla 40. Estadísticos descriptivos para los grupos estratificados por síntomas. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil. 142

Tabla 41. Correspondencia en espesor (nm) entre la clasificación del patron lipídico interferencial publicada por Guillon²⁷ e Isenberg et al²¹⁹ con la clasificación de Korb basada en el color.⁴⁶ Las zonas sombreadas indica falta de correspondencia de espesor entre calcificaciones. 155



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema secretor del sistema lagrimal.	15
Figura 2. Sistema de distribución de la película lagrimal.....	16
Figura 3. Sistema de excreción del sistema lagrimal.	16
Figura 4. Estructura de la película lagrimal. Modelo de Wolff.....	17
Figura 5. Posibles estructuras de la capa lipídica de la película lagrimal. Las líneas rojas representan láminas polares y líneas azules representan laminas no polares. (A) modelo de láminas no polares “en placas”. (B) Modelo de láminas no polares plegado. Extraído de King-Smith, et al ⁵⁹	20
Figura 6. Fisiopatología del ojo seco según DEWS. ¹⁴ Abreviaturas. SSDE: ojo seco asociado a síndrome de Sjögren, NSDE: ojo seco no asociado a síndrome de Sjögren. MGD: disfunción de la glándula de Meibomio. MAPK: Proteinquinasa. NFkB: factor nuclear de las células B. TNF α : factor de necrosis tumoral (citocina proinflamatoria).MMPs: metaloproteinasas.	26
Figura 7. Examen del polo anterior con la lámpara de hendidura.....	33
Figura 8. Tinción del epitelio corneal visto con lámpara de hendidura y tinción con fluoresceína. Se observa con filtros azul cobalto y amarillo. A) Punteado leve inferior, B) tinción más generalizada y coalescencia inferior.	34
Figura 9. A) Tinción con verde lisamina. B) Epiletiopatía en limpiaparabrisas (LWE) 34	34
Figura 10. Test de Schirmer. Imagen extraída de http://www.tijuanaeyecare.com/ojo_seco.html	35
Figura 11. Test de Rojo Fenol.	36
Figura 12. Escala de diluciones de fluoresceína en el test de aclaramiento lagrimal. Imagen extraída de Vico et al. ¹²⁹	36
Figura 13. Ruptura de la PL (zonas oscuras) durante el test BUT.	37
Figura 14. Test NIBUT. A) Aspecto del reflejo de la rejilla (mediante el uso del Tearscope. B) Distorsión de la imagen de la rejilla durante el momento de la ruptura de la PL.....	38
Figura 15. Aspecto de la PL con lámpara de hendidura mediante reflexión especular.. 40	40
Figura 16. Fuente de luz hemiesférica para obtener una mayor reflexión especular. 41	41
Figura 17. Esquema óptico que del principio de interferencia. Ambos haces de luz $r1$ y $r2$ se originan de la misma fuente: $r1$ es el haz de luz reflejado desde la interfaz el aire-lípido de la PL y $r2$ es haz de luz reflejado desde la interfaz lípido-acuosa de la PL. El espesor d genera una diferencia de camino óptico entre ellos y producirá franjas de interferencia después de la recombinación. Φ es el ángulo de incidencia, igual al ángulos reflejado. Φ' indica el ángulo de refracción y $n(\lambda)$ es el índice de refracción... 42	42
Figura 18. Tearscope-Plus en su versión portátil (A) y acoplado a una lámpara de hendidura (B).....	43
Figura 19. Aspecto de los patrones de interferencia observados con el Tearscope Plus. (A) Marmóreo abierto. (B) Marmóreo cerrado. (C) Fluido. (D) Amorfo. (E) Coloreado.	45
Figura 20. Osmómetro Clifton	47
Figura 21. Osmómetro Advanced Tear 3100	48
Figura 22. Osmómetro de presión de vapor Wescor 5520	49
Figura 23. Osmómetro de impedancia eléctrica TearLab. A) Sonda en forma de lápiz. B) Tarjeta o sonda de medición desechable que se inserta en la parte superior del lápiz. C) Unidad de medición.....	49
Figura 24. Meibómetro MB550. A) Unidad de medición que el la parte superior tiene la unidad fométrica. B) Cassette que contiene la cinta de medición.....	53

Figura 25. Lista de valores de “casual level” y curva característica ofrecida por el software del meibómetro.	54
Figura 26. Altura del menisco lagrimal (TMH). A) TMH visto de frente o a las seis horas. B) TMH visto de perfil o tangencial por Mainstone et al. ²⁴ C) TMH visto de perfil por Glasson et al. ¹⁵⁵	55
Figura 27. Radio de curvatura del menisco lagrimal (TMR). A) TMR determinado de perfil por Mainstone et al. ²⁴ B) TMR determinado de frente, por medio de una mira o “meniscometría” determinado por Oguz et al. ¹⁸⁰	56
Figura 28. Área del menisco lagrimal (XSA) con el método de A) Mainstone et al. ²⁴ y B) Glasson et al. ¹⁵⁵	56
Figura 29. Anchura del menisco lagrimal (TMW) medido por Mainstone et al. ²⁴	56
Figura 30. Altura del menisco lagrimal total (TMH-A) y altura del menisco reflejo (TMH-R).....	58
Figura 31. Servicio de Optometría. A) Entrada. B) Interior. C) Gabinete de exploración optométrica. D) Gabinete de investigación donde se realizó esta tesis.	63
Figura 32. Medida de osmolaridad con el osmómetro TearLab.....	64
Figura 33. A) tarjetas para la calibración del TearLab. B) Lápiz del TearLab con la tarjeta de calibración.....	65
Figura 34. A) cinta sintética formando preparada para medir. B) Retirada de la cinta del cassette para su preparación.	66
Figura 35. A) Recogida de muestra de lípido del borde palpebral inferior del paciente. B) Lectura del lípido recogido del paciente.....	66
Figura 36. Unidades meibométricas y curva característica. Los fabricantes recomiendan tomar los valores del “pico” de la curva característica (indicado con un cuadro) pero no especifican cuántas medidas del pico hay que considerar.	67
Figura 37. Software TopconIMAGEnet i-base para la gestión de la adquisición y almacenamiento de los vídeos.	68
Figura 38. Posición del Tearscope para obtener el tamaño A) Área 1 y B) Área 2	69
Figura 39. Imagen del control de iluminación del software Topcon IMAGEnet i-base. (a) 4 niveles discretos de iluminación. (b) Barra del nivel de iluminación que indica 28 unidades (Iluminación 2).	70
Figura 40. A) Patrón con tamaño pequeño (A1) e iluminación oscura (I1) ; B) Patrón con área pequeña (A1) e iluminación alta (I2); C) Patrón con area grande (A2) e iluminación oscura (I1); D) Patrón con área grande (A2) e iluminación alta (I2).	71
Figura 41. Aspecto del menisco lagrimal con Tearscope.....	72
Figura 42. Aspecto del menisco lagrimal con lámpara de hendidura.....	73
Figura 43. Aspecto del menisco lagrimal con lámpara de hendidura e instilación de fluoresceína.....	73
Figura 44. Software ImageJ para determinar la TMH. Para ello se traza una línea vertical que defina la TMH. El software mide la longitud de la línea en píxels.	74
Figura 45. Parámetros que miden el menisco central con lámpara de hendidura. A) TMH-CA, B) TMH-CR, C) TMH-F	76
Figura 46. Parámetros que miden el menisco central con Tearscope-Plus. A) TMH-Tc, B) TMH-TcR.....	76
Figura 47. Parámetros que miden el menisco nasal y temporal con lámpara de hendidura. A) TMH-NA, B), TMH-TA, C) TMH-NR, D) TMH-NR.....	77
Figura 48. A) Ejemplo de una imagen original correspondiente a un PLI coloreado. B) Región de interés seleccionada por la aplicación informática.....	91
Figura 49. Imagen del PLI marcada por los observadores con la aplicación iDEAS. A) Superposición de la zona marcada realizada por los 4 observadores. Cada color	

representa la zona clasificada por un observador. B) Área de coincidencia o concordancia entre los 4 observadores. Este área se usará como imagen de referencia para el entrenamiento de profesionales de la visión, como el software automático.....	102
Figura 50. Patrón Marmóreo Abierto. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.....	104
Figura 51. Patrón Marmóreo Cerrado. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.....	105
Figura 52. Patrón Fluido. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.	106
Figura 53. Patrón Amorfo. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.	107
Figura 54. Patrón Coloreado. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.	108
Figura 55. Patrón Intermedio Marmóreo Abierto – Marmóreo Cerrado. Las áreas oscuras están menos espaciadas, mostrando un patrón un poco más visible y detallado, pero no alcanza el nivel de detalle del siguiente nivel.	109
Figura 56. Figure 10. Patrón Intermedio Marmóreo Cerrado – Fluido. A) y D) muestran un PLI en dientes de sierra con finas. Las flechas blancas señalan las líneas delgadas (similares al patrón Fluido) pero con un perfil en “dientes de sierra” (similar al Marmóreo Cerrado”. B) y D) muestran un LLP con unas ondulaciones gruesas. Las flechas blancas señalan las zonas oscuras gruesas con un perfil ondulado.....	110
Figura 57. Patrón Intermedio Fluido – Amorfo. Tiene el aspecto de un patrón Fluido en un fondo Amarillo. El área más gruesa es más amarillenta (indicado por las flechas blancas).....	111
Figura 58. Anotaciones realizadas por 4 observadores experimentados en 5 imágenes representativas y sus respectivas imágenes de salida proporcionadas por el sistema automático. rojo = Marmóreo Abierto, amarillo = Marmóreo Cerrado, verde = Fluido, cian = Amorfo, y azul = Coloreado.....	112
Figura 59. Gráficas de barras obtenidas de realizar la comparación entre los 5 observadores (4 observadores experimentados y el sistema automático). Un observador se denomina “observador de referencia” y se compara con el resto de los observadores. En cada comparación se muestra el número de píxeles del examinador de referencia que concuerda con los otros observadores. A) Observador 1 como "observador de referencia" B) Observador 2 como "observador de referencia" C) Observador 3 como "observador de referencia" D) Observador 4 como "observador de referencia" E) Sistema automático como "observador de referencia. MA: Marmóreo Abierto, MC: Marmóreo Cerrado, FL: Fluido, AM: Amorfo, CO: Coloreado.....	114
Figura 60. Media frente a la diferencia entre los valores de osmolaridad obtenidos en las dos sesiones en n = 50 sujetos. La línea continua indica la media de la diferencia entre ambas sesiones, mientras que las líneas discontinuas representan los intervalos del 95% de confianza.....	123
Figura 61. Gráficas de Bland y Altman de la media frente a la diferencia de los valores de la TMH para: (A) THM-CA menos THM-CR; (B) THM-CA menos THM-F; (C) THM-Tc menos THM-TcR y (D) THM-CA menos THM-Tc. También se indican la media de la diferencia (línea continua) y el IC 95% entre los parámetros de la TMH (líneas discontinuas).	127
Figura 62. Gráficas de Bland y Altman de la media frente a la diferencia de los valores de la TMH para: (A) THM-CA and THM-NA; (B) THM-CA and THM-TA; (C) THM-TA and THM-NA; (D) THM-CR and THM-NR; (E) THM-CR and THM-TR ; (F)	

THM-TR and THM-NR. También se indican la media de la diferencia (línea continua) y el IC 95% entre los parámetros de la TMH (líneas discontinuas).....	129
Figura 63. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en la muestra general de estudio. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	137
Figura 64. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos de edad ≤ 20 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	139
Figura 65. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos entre 25 y 45 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	140
Figura 66. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos > 45 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	141
Figura 67. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en los cuestionarios indicaron ojo sano. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	143
Figura 68. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en un cuestionarios indicaron ojo seco. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	144
Figura 69. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en los dos cuestionarios indicaron ojo seco. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco.....	145
Figura 70. Esquema gráfico de la clasificaión subjetiva del menisco con lámpara de hendidura. A) Grado 1, B) Grado 2 C) Grado 3 D) Grado 4.....	164
Figura 71. Esquema gráfico de la clasificaión subjetiva del menisco con Tearscope. A) Grado 1, B) Grado 2 C) Grado 3 D) Grado 4.....	165

ACRÓNIMOS

AVF: Agudeza Visual Funcional.
BUT: Tiempo de ruptura lagrimal (*Tear Breakup Time*)
DEWS: International Dry Eye Workshop.
DGM: Disfunción de glándulas de meibomio.
IC 95%: Intervalo del 95% de Confianza.
iDEAS: “*Dry Eye Assessment System*”
LC: Lentes de Contacto.
LH: Lámpara de Hendidura.
NIBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal No Invasivo (*Non- Invasive Tear Breakup Time*)
OSDI: “*Ocular Surface Disease Index*”
OSDL: Ojo seco por deficiencia lagrimal.
OSE: Ojo seco evaporativo.
PL: Película lagrimal.
PLI: Patrón Lipídico Interferencial.
SO: Superficie Ocular.
SOS: Síndrome de Ojo Seco.
SS: Síndrome de Sjögren.
TMC: Radio de curvatura del menisco lagrimal (*Tear meniscus radius of curvature*).
TMH: Altura del Menisco Lagrimal (*Tear Meniscus Height*).
TMH-A: Altura del Menisco Lagrimal Absoluto.
TMH-CA: Altura del Menisco Lagrimal Central Absoluto observado con lámpara de hendidura.
TMH-CR: Altura del Menisco Lagrimal Central Reflejo observado con lámpara de hendidura.
TMH-F: Altura del Menisco Lagrimal Central observado con lámpara de hendidura y tinción de fluoresceína.
TMH-NA: Altura del Menisco Lagrimal Nasal Absoluto observado con lámpara de hendidura.
TMH-NR: Altura del Menisco Lagrimal Nasal Reflejo observado con lámpara de hendidura.
TMH-R: Altura del Menisco Lagrimal del Reflejo.
TMH-TA: Altura del Menisco Lagrimal Temporal Absoluto observado con lámpara de hendidura.
TMH-Tc: Altura del Menisco Lagrimal central Absoluto observado con Tearscope.
TMH-TcR: Altura del Menisco Lagrimal central Reflejo observado con Tearscope.
TMH-TR: Altura del Menisco Lagrimal Temporal Reflejo observado con lámpara de hendidura.
TMW: Anchura del Menisco Lagrimal (*Tear Meniscus Width*).
TTT: Tiempo de adelgazamiento lagrimal (*Tear Thinning Time*)
UM: Unidades Meibométricas.
XSA: Área del menisco lagrimal (*Tear Meniscus Cross-Sectional Area*).



1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO





La **película lagrimal (PL)** es esencial para garantizar la salud de la superficie ocular y la calidad visual.¹ Aunque se han propuesto distintos modelos, la PL normalmente se describe como una estructura trilaminar, compuesta por una capa lipídica superficial, una capa acuosa intermedia y una capa mucínica subyacente.¹ Cada una de estas capas tiene una función específica en la formación y estabilidad de la PL. Por lo tanto es muy importante que cada capa presente la calidad y cantidad adecuadas, así como que exista una buena interacción entre ellas,² ya que la PL juega un papel esencial en el mantenimiento de la estructura y función de la superficie ocular (conjuntiva bulbar, tarsal y córnea) para garantizar un adecuado confort ocular y visual.³ La PL aporta nutrientes, hidratación, protección antimicrobiana y eliminación de detritus a la superficie ocular anterior, así como el mantenimiento de la visión nítida proporcionando a la córnea rugosa una superficie ópticamente lisa.^{3,4}

Disponer de una PL estable cobra especial importancia durante el porte de **lentes de contacto (LC)**, especialmente si se tiene en cuenta que más del 50% de los usuarios de LC presentan síntomas de sequedad ocular,⁵ siendo éste el motivo por el que muchos usuarios reducen el porte o utilizan las LC de manera discontinua.⁶

El Síndrome de Ojo Seco (SOS) es un reconocido problema creciente de salud pública y sus síntomas uno de los principales motivos de consulta de los profesionales de la visión, tanto en atención primaria como especializada. El SOS tiene un gran impacto en la calidad visual y por tanto en la calidad de vida, afectando a actividades de la vida diaria, como leer, conducir o el uso de pantallas electrónicas entre otros.^{7,8} El SOS es una enfermedad de la superficie ocular, cuya prevalencia ha aumentado en los últimos años hasta afectar a un 5-35% de la población.^{9,10} En Estados Unidos, por ejemplo, uno de cada cinco individuos padece ojo seco, y entre siete y diez millones requieren actualmente el uso de lágrimas artificiales para tratar sus síntomas.¹¹

Los estudios epidemiológicos realizados en SOS, revelan una gran variación en su prevalencia e incidencia, variabilidad atribuible a las diferencias en las definiciones del SOS, en la población de estudio y sobre todo a los criterios de diagnóstico.¹²

El aumento de la prevalencia del SOS en los últimos años es debida a varios factores que desestabilizan la película lagrimal (PL): ambientes nocivos (polución, humos, compuestos orgánicos etc), aumento de tareas visuales que disminuyen la tasa de parpadeo (sobre todo con el uso de pantallas electrónicas), el mayor uso de fármacos (antihistamínicos, antihipertensivos, antidepresivos, etc)¹³ y la edad (tanto la producción como la estabilidad de la PL disminuye con la edad). Todos estos factores contribuyen a la sintomatología de ojo seco.

El informe del “**International Dry Eye Workshop**” (**DEWS**) de 2007,¹⁴ actualiza la definición del SOS e introduce la aceptación del SOS como enfermedad inflamatoria, así como la hiperosmolaridad de la PL como parte fundamental en la patogénesis de esta enfermedad.

La clasificación más aceptada del SOS es la publicada en el informe del DEWS que diferencia entre SOS hiposecretor y el SOS evaporativo. Es decir, diferencia entre el SOS debido a una insuficiente producción de lágrima o a una excesiva evaporación de la misma. Tanto el SOS hiposecretor como el SOS evaporativo produce hiperosmolaridad lagrimal, la cual genera daño en las células epiteliales de la superficie ocular desencadenando una cascada de eventos inflamatorios y enfermedad de la superficie ocular.⁶ La osmolaridad depende de la tasa de flujo de lágrimas y de la tasa de evaporación de la lágrima, la cual es influenciada por seis factores: condiciones ambientales (temperatura, humedad, viento, presión, polutantes: tabaco, polvo o productos químicos), tasa del parpadeo, área de apertura palpebral, regulación

hormonal, capas de la PL y capa lipídica de la PL.^{13, 15} La hiperosmolaridad ocurre como consecuencia de una excesiva evaporación de agua de la superficie ocular debido a la inestabilidad de la película lagrimal, y es responsable de la inflamación ocular.

El SOS evaporativo, el más prevalente de todos los tipos de “ojo seco”, se debe a una disfunción de la capa lipídica de la PL. Las causas que lo producen pueden ser intrínsecas (**disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM)**, desórdenes de la dinámica palpebral, tasa de parpadeo reducida, exposición ocular incrementada o la ingesta de determinados medicamentos) o extrínsecas (deficiencia de vitamina A, conservantes de colirios tópicos, uso de LC, enfermedades de la superficie ocular como alergias o la exposición a ambientes adversos).¹⁴ De todas ellas, y teniendo en cuenta que las secreciones lipídicas contribuyen a la formación de una película lagrimal estable, la DGM es la principal causa del ojo seco evaporativo.¹⁶

El estudio de la estabilidad de la PL ha cobrado mucha importancia con el tiempo, principalmente porque para el correcto funcionamiento de la visión no sólo es necesario tener una cantidad de lágrima adecuada, si no que esta lágrima se mantenga estable el tiempo suficiente. Actualmente, el SOS ya no se reduce al término “*queratoconjuntivitis sicca*”,¹⁷ que lo reducía únicamente a un defecto en la secreción lagrimal. De todas formas secreción y estabilidad deben relacionarse, ya que una mala estabilidad de la PL puede conducir, con el tiempo, a un SOS hiposecretor debido al aumento en la evaporación de la lágrima.¹⁸ De la misma forma, un ojo seco hiposecretor puede ocasionar un ojo seco evaporativo.¹⁸

A pesar de que el SOS influye en la salud y el bienestar de millones de personas, no existe un consenso respecto a la clasificación y al diagnóstico del mismo. El diagnóstico de ojo seco es sumamente difícil debido a que presenta una etiología multifactorial, por lo que se necesita la realización de varias pruebas durante la evaluación, y los tests clínicos presentan una variabilidad importante, principalmente debido a la subjetividad de las pruebas diagnósticas.¹⁹

Existe una gran cantidad de tests clínicos disponibles para evaluar la PL que pueden presentar una mayor o menor fiabilidad.²⁰ Sin embargo, ninguno puede considerarse como prueba de referencia para diferenciar el ojo normal del ojo seco. Por este motivo, los clínicos recomiendan realizar una batería de varias pruebas antes de emitir el diagnóstico.²¹ Además, estas técnicas se pueden clasificar según el área que evalúan, por lo que se pueden dividir en (1) pruebas que evalúan la producción de la PL, tal como la tira de Schirmer,²² el hilo impregnado en rojo fenol²³ o el menisco lagrimal,²⁴ entre otros; (2) pruebas destinadas a la estabilidad de la PL, tal como el tiempo de ruptura lagrimal invasivo (BUT)²⁵ y no invasivo (NIBUT),²⁶ la evaluación de la capa lipídica mediante interferometría^{27, 28} o la agudeza visual funcional (AVF);²⁹ (3) pruebas que evalúan la superficie ocular, como el uso de tintes vitales³⁰ o la epiteliopatía en parabrisas (*lid wiper epitheliopathy*, LWE),³¹ y finalmente (4) tests de laboratorio, tal como la prueba de cristalización lagrimal (*tear ferning test*, TFT),³² el análisis de las proteínas³³ y lípidos lagrimales,³⁴ o la citología de impresión.³⁵ Hay que señalar que preferentemente los tres primeros grupos representan las pruebas más utilizadas en clínica, ya que el último requiere un equipo más sofisticado cuyo perfil es más adecuado en un laboratorio.

Cabe citar la importancia actual del estudio de la osmolaridad, ya que la hiperosmolaridad está presente en todo tipo de ojo seco.²¹ A su vez, actualmente se puede contar con instrumental adecuado para una evaluación rápida en clínica, mediante el osmómetro de impedancia eléctrica TearLab.³⁶ Aunque el estudio de la osmolaridad podría considerarse una prueba que abarca todos los aspectos de la lágrima, ciertos

autores la catalogan como una prueba de la estabilidad de la PL (cita revisión MCginigle).³⁷

Dentro de los tests que evalúan la cantidad de lágrima destaca la evaluación del menisco lagrimal, ya que supone una evaluación no invasiva de la cantidad lagrimal mediante la observación directa del menisco. En este sentido, uno de los parámetros más evaluados es la **altura del menisco lagrimal (*Tear Meniscus Height, TMH*)**.²⁴ Sin embargo, existe controversia entre los investigadores en la forma de medir el TMH y en el equipo necesario para ello, donde se puede encontrar instrumental disponible en un gabinete optométrico^{38,39} hasta material más sofisticado.⁴⁰

La evaluación de la capa lipídica superficial está ligada directamente a la estabilidad de la PL, ya que la capa lipídica es la principal responsable de evitar la evaporación lagrimal.^{15,41} Existen varias formas de estudiar el componente lipídico de la lágrima. Una técnica invasiva es la meibometría,⁴² que puede determinar la cantidad de lípido meibomiano mediante el contacto de 10 segundos de una cinta sintética en el borde libre del párpado.

Otra técnica destinada a la evaluación de la capa lipídica, es la valoración del **patrón lipídico interferencial (PLI)**. Esta prueba, ligada a la estabilidad de la PL, consiste en categorizar el grosor y regularidad de esta capa lagrimal mediante la observación del aspecto y color del patrón interferencial con las capas subyacentes.^{28,43,44} Esta prueba ofrece una observación de primera mano del estado de la PL basada en la morfología de la capa lipídica superficial.⁴⁵ El espesor de la capa lipídica se puede examinar “in vivo” con la **lámpara de hendidura (LH)** mediante la observación de un fenómeno interferencial (reflexión especular). Sin embargo, con esta técnica el examen se reduce a un área pequeña de la córnea, lo que limita la fiabilidad de la técnica ya que el espesor de la capa lipídica no es homogéneo.⁴⁶ Por el contrario, el Tearscope-Plus, diseñado por Guillon,⁴⁴ permite la observación completa del PLI. Guillon propuso una clasificación del PLI en cinco categorías principales ordenadas según aumenta el espesor de la capa lipídica.⁴⁴ Cuanto menor es el espesor lipídico el patrón interferencial correspondiente será menos coloreado y más homogéneo, lo cual lo convertirá en más difícil de apreciar.⁴⁴ Cuando la capa lipídica es muy delgada puede representar contraindicaciones para la adaptación de LC ya que puede conducir a un aumento de la tasa de evaporación.⁴⁷ Por contra, cuando aumenta el espesor de capa lipídica, el patrón presenta más colores y será más heterogéneo, siendo para el clínico más fácil reconocerlo.⁴⁶ Existen también otros patrones denominados “anormales” que representan una capa lipídica inadecuada para mantener sus propiedades intactas.⁴⁸ Sin embargo, aunque la valoración del PLI permite establecer una clasificación de la capa lipídica de la PL, en la práctica clínica es una prueba que no se realiza con regularidad, debido principalmente a la dificultad de la técnica y, especialmente, a su alto componente subjetivo.⁴⁶ A pesar de existir imágenes publicadas de la forma y color de patrones interferenciales de referencia,⁴⁴ es sumamente difícil una correcta clasificación de la capa lipídica, sobre todo cuando se superponen varios tipos ya que el resultado depende de la correcta interpretación del clínico. Sin embargo, no hay duda de que el examen de la estructura de la capa lipídica lagrimal es una técnica útil que aporta al clínico información valiosa acerca de la estabilidad de la PL mediante procedimientos no invasivos.

Por lo tanto, dada la problemática existente en el diagnóstico del SOS, debido principalmente a la subjetividad de algunas pruebas y a la falta de consenso entre distintos investigadores, se hace necesario un estudio con el objetivo de profundizar en los test diagnósticos más característicos del SOS. De la misma forma, es necesaria la estandarización y/o objetivización de las pruebas de la PL, con el fin de garantizar la

repetibilidad de los resultados entre observadores y evitar el sesgo derivado de la subjetividad de las pruebas. Esto cobra gran importancia dada la elevada prevalencia del SOS en la sociedad actual.



2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS





Dado que:

El Síndrome de ojo Seco (SOS) es un problema creciente de salud pública y afecta a la calidad de vida de las personas.

El envejecimiento de la población, los hábitos derivados del uso de pantallas electrónicas, el aumento creciente de la contaminación ambiental, el aumento en la incidencia de patologías oculares y sistémicas con repercusión en la lágrima, el mayor consumo de fármacos, o el aumento creciente de personas que viven en grandes ciudades y pasan mucho tiempo en espacios cerrados con mala ventilación, descompensación de temperaturas o partículas en suspensión, lo que se conoce como el síndrome del edificio enfermo.^{49, 50} En definitiva, un aumento en la calidad de vida hace que la prevalencia en el SOS sea creciente, aumentado en los últimos años hasta afectar a un 5-35% de la población.

El diagnóstico de esta patología es complejo, no sólo por su etiología multifactorial, si no también por la alta variabilidad de las pruebas diagnósticas, las cuales están sometidas a una gran subjetividad.

Se parte de las siguientes hipótesis:

- La capa lipídica de la PL es fundamental en la estabilidad lagrimal, cuyo déficit general el SOS evaporativo, el más prevalente actualmente.
 - Uno de las técnicas para valorar el estado de la fase lipídica de la lágrima es mediante la meibometría. Sin embargo no está establecido un protocolo estandarizado ni existen mucha investigación en este campo.
 - Por otro lado, uno de los parámetros más importantes para estudiar la capa lipídica de la PL es la evaluación del patrón interferencial de la capa lipídica, ya que ésta ofrece una información visual de primera mano de la estructura lagrimal.
 - La evaluación del patrón interferencial de la capa lipídica de la lágrima ofrece una información visual de primera mano de la estructura lagrimal.
 - La observación del PLI está muy afectada por el componente subjetivo del observador (requiere una curva de aprendizaje) y no hay publicado un esquema claro de las imágenes del PLI.
 - Es posible objetivar el análisis del PLI mediante un sistema de clasificación automático basado en el análisis computerizado de imágenes. La aplicación informática para categorizar el PLI ofrece una herramienta objetiva para evaluar la calidad lagrimal, junto con la monitorización del estado de la PL, ya que permite guardar la información concerniente a la estructura lagrimal para un correcto seguimiento en consulta.
- Las principales pruebas clínicas que existen para evaluar la calidad de la PL son invasivas o carecen de la suficiente repetibilidad. Estas pruebas clínicas no siempre presentan correlación entre las mismas, sobre todo cuando se trata de evaluar la correlación entre los datos objetivos y la sintomatología que refiere el paciente.
 - Con el fin de realizar más objetiva la evaluación de los síntomas del paciente, es aconsejable utilizar cuestionarios estandarizados como McMonnies u OSDI. Éste último es uno de los cuestionarios más utilizados actualmente.

- El estudio de la osmolaridad es de gran importancia ya que la hiperosmolaridad lagrimal está presente en todos los tipos de ojo seco y en un factor desencadenante de esta enfermedad. Sin embargo, para evaluar la osmolaridad lagrimal se necesita un osmómetro que requiera de poca cantidad de muestra. Actualmente el osmómetro disponible para el estudio de la PL es el TearLab.
- El estudio de la altura del menisco lagrimal supone un parámetro importante ya que está directamente relacionado con la cantidad de lágrima. Sin embargo existe mucha controversia entre la forma de evaluarlo, por lo que es necesario establecer unos criterios de medición e interpretación de este parámetro.
- Dada la importancia de la osmolaridad y la altura del menisco lagrimal, es fundamental establecer la correlación entre ellas con el fin de entender mejor el diagnóstico de SOS. De echo, la osmolaridad con TearLab recoge la muestra de lágrima del menisco lagrimal, por lo que debería haber correlación entre ambas. A su vez, es interesante establecer si estos parámetros se correlacionan con la evaluación de los síntomas mediante los cuestionarios estandarizados.
- En consecuencia, el estudio de las prueba clínicas de SOS enunciadas aquí, junto con la objetivación y la publicación de un banco de imágenes del PLI, servirá para mejorar la prevención, detección, diagnóstico, pronóstico y tratamiento del SOS.

Por lo tanto, la presente tesis tiene los siguientes objetivos:

ESTUDIO DE LA CAPA LIPÍDICA DE LA PELÍCULA LAGRIMAL. PATRONES LIPÍDICOS INTERFERENCIALES.

OBJETIVO 1. Estudio del patrón lipídico interferencial (PLI) determinado con el Tearscope Plus por dos observadores.

- I. Establecer el nivel de concordancia entre dos observadores en la evaluación de imágenes del PLI (*análisis interobservador*).
- II. Establecer el nivel de repetibilidad de cada observador en la categorización de las mismas imágenes del PLI determinadas con un mes de diferencia (*análisis intraobservador*).

OBJETIVO 2. Diseño y validación de una nueva aplicación informática para la categorización objetiva de los PLI, observados con el Tearscope Plus, basándose en la evaluación de la textura y el color.

- I. Establecer el nivel de concordancia entre un observador experimentado como referente en la evaluación de los PLI (*examinador de referencia*) frente a otros dos observadores menos expertos y a la nueva aplicación informática (*análisis de precisión*).
- II. Establecer el nivel de concordancia entre la nueva aplicación informática y los dos observadores menos expertos para evaluar la similitud entre ellos.

OBJETIVO 3. Diseño de una nueva plataforma (iDEAS) que incluye el almacenamiento de imágenes del PLI obtenidos con el Tearscope Plus, como guía para los profesionales, y una aplicación informática (basada en la diseñada en el objetivo 3) para la categorización objetiva de las distintas zonas de PLI presentes en una única imagen.

- I. Establecer las zonas de concordancia de los PLI entre 4 observadores experimentados mediante la selección de la zona a categorizar.

- II. Construir una base de datos de PLI con una concordancia entre los 4 observadores experimentados para servir de guía a otros profesionales.
- III. Validación de una nueva aplicación informática, basada en la aplicación anterior, que categoriza las diferentes zonas de PLI en una única imagen. Esta nueva aplicación (versión mejorada de la anterior) permite la evaluación automática de la heterogeneidad del PLI.

ESTUDIO DE LA SECRECIÓN DEL LÍPIDO MEIBOMIANO MEDIANTE LA MEIBOMETRÍA.

OBJETIVO 1. Estandarización del procedimiento de evaluación del lípido meibomiano del borde libre del párpado inferior mediante el meibómetro MB550.

- I. Evaluar la capacidad del meibómetro para diferenciar entre sujetos sanos y con sintomatología de ojo seco mediante cuestionarios los estandarizados McMonnies y OSDI.
- II. Evaluar el procedimiento para promediar los resultados obtenidos con el meibómetro MB550 según su relación con la sintomatología de los sujetos.

ESTUDIO DE LA OSMOLARIDAD Y LA ALTURA DEL MENISCO LAGRIMAL

OBJETIVO 1. Estudio de la fiabilidad de las medidas de osmolaridad lagrimal obtenidas mediante el osmómetro de impedancia eléctrica TearLab

- I. Determinación de la precisión de las medidas de osmolaridad TearLab mediante la comparación con muestras de referencia (*estudio in vitro*)
- II. Determinación de la repetibilidad intersesión de las medidas de osmolaridad TearLab en lágrimas humanas (*estudio in vivo*).

OBJETIVO 2. Estandarizar los parámetros de la altura del menisco lagrimal (TMH) obtenidos y capturados mediante análisis de imágenes.

- I. Estandarizar los parámetros de TMH utilizando como sistema de observación la lámpara de hendidura.
- II. Estandarizar los parámetros de TMH utilizando como sistema de observación el Tearscope Plus.
- III. Evaluar las diferencias entre los distintos parámetros de TMH.
- IV. Estudiar la evaluación subjetiva del TMH absoluto y proporcionar una escala gráfica de graduación subjetiva del menisco con imágenes obtenidas con lámpara de hendidura y Tearscope.
- V. Establecer la correlación entre el valor del TMH objetivo y la evaluación subjetiva obtenida mediante el criterio de un observador experimentado.

OBJETIVO 3. Establecer la relación entre el TMH y la osmolaridad lagrimal medida con el osmómetro de impedancia eléctrica TearLab.

- I. Determinar la correlación entre la osmolaridad medida con el TearLab y el valor de TMH objetivo.
- II. Determinar la correlación entre la osmolaridad medida con el TearLab y la valoración subjetiva del menisco lagrimal.
- III. Establecer la correlación entre la osmolaridad medida con el TearLab y el TMH según el rango de edad de los sujetos.
- IV. Establecer la correlación entre la osmolaridad medida con el TearLab y el TMH según la sintomatología valorada con los cuestionarios estandarizados McMonnies y OSDI.



3 INTRODUCCIÓN





3.1 PELÍCULA LAGRIMAL

La **película lagrimal (PL)** es una estructura altamente especializada que cubre la porción anterior de la conjuntiva y de la córnea, siendo esencial para mantener el sistema visual íntegro y funcional. Clásicamente se describe como una estructura trilaminar con distintos niveles de complejidad, compuesta por una capa lipídica, una capa acuosa y una capa mucínica,¹ donde cada una de ellas tiene una función específica en la formación y estabilidad de la PL. El volumen total de la PL es $7 \pm 2 \mu\text{l}$, con un espesor entre 6 y 10 μm , que no está distribuida uniformemente sobre la superficie ocular. Del volumen total de lágrima presente en la superficie ocular interpalpebral, el 70% se distribuye a lo largo del párpado superior e inferior, formando los meniscos lagrimales⁵¹. Una pequeña proporción permanece debajo de los párpados, situada entre las conjuntivas bulbar y tarsal, y el resto del volumen se distribuye sobre la córnea y la conjuntiva bulbar expuesta⁵².

En realidad, la PL forma parte de un sistema más complejo que Stern et al⁵³ habían denominado **Unidad Funcional Lagrimal**, y que consiste en un sistema integrado formado por las glándulas lagrimales, la superficie ocular (córnea, conjuntiva y limbo), glándulas de meibomio y los párpados, así como los nervios sensoriales y motores que los conectan.

Tal como estableció Holly,¹ este sistema se puede diferenciar en tres componentes, sistema secretor, sistema de distribución y sistema excretor.

El sistema secretor comprende las glándulas productoras de lágrima que suministran los distintos componentes de la PL mediante las glándulas lagrimal principal y accesorias, Krause y Wolfring (fase acuosa), las glándulas de meibomio, Zeis y Moll (fase lipídica) y las células de Globet conjuntivales, caliciformes o mucíparas (fase mucínica). El tipo celular predominante en la glándula lagrimal es la acinar, secretora de proteínas, electrolitos y agua, estas células constituyen los segmentos secretores terminales, o acinos, que son estructuras de carácter lobulillar o tubular formadas por acumulaciones de células acinares..(Figura 1)

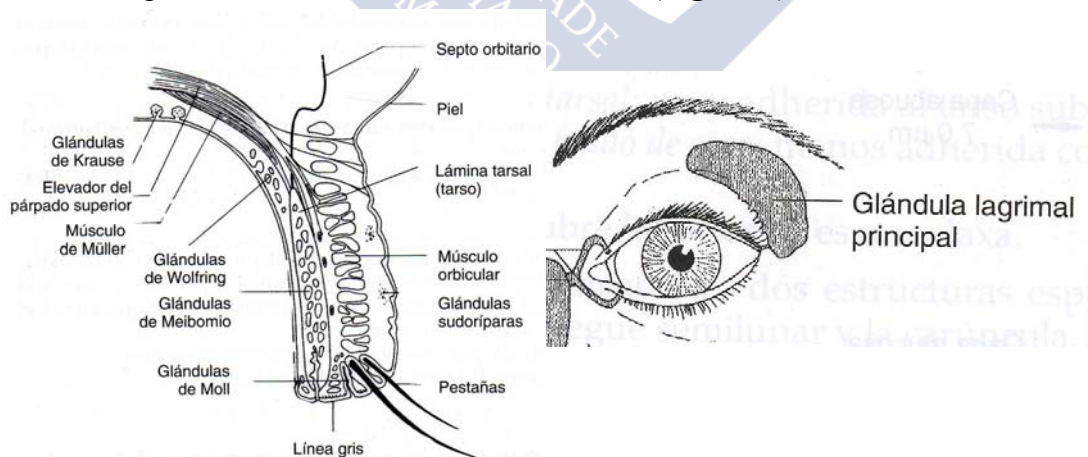


Figura 1. Sistema secretor del sistema lagrimal.

El sistema de distribución consiste en los párpados, cuya función principal es distribuir la lágrima sobre la SO expuesta. Después de cada parpadeo la PL se vuelve a formar, la capa mucosa se reviste y la capa lipídica se redistribuye. Durante el cierre de los párpados la fracción lipídica se comprime y las moléculas lipídicas montan unas

sobre otras formando una doble capa. En el momento del cierre total los lípidos se estiran y terminan por romper su estructura, y cuando los párpados se abren, los lípidos se extienden rápidamente formando una monocapa. En el menisco lagrimal ocurre el único flujo hidráulico significativo (conducido por un gradiente de presión hidrostática) ya que ahí la PL es lo suficientemente gruesa para provocar este flujo. (Figura 2)

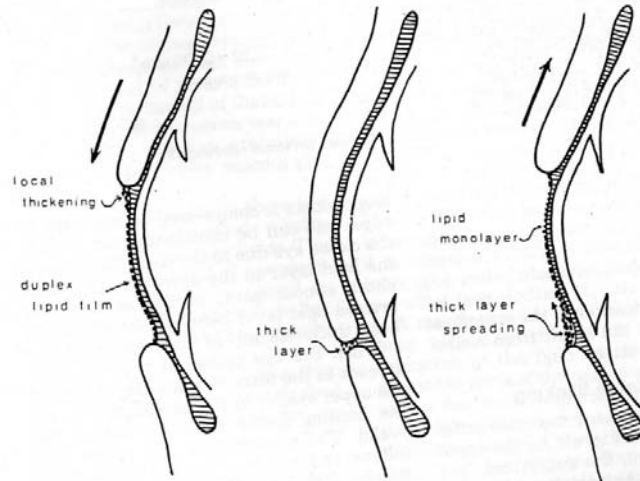


Figura 2. Sistema de distribución de la película lagrimal.

El sistema de excreción está constituido por un conjunto de conductos excretores que recogen las lágrimas producidas y las vierten en la conjuntiva. El movimiento de las lágrimas a través del ojo, favorecido por el parpadeo, permite su llegada al ángulo interno del ojo, en donde son drenadas a través de los canaliculos lagrimales superior e inferior (Figura 3), a los que sigue el canalículo común que termina en el saco lagrimal. Éste, a su vez, se continua en su parte inferior con el conducto nasolagrimal. En condiciones normales, la lágrima (junto con detritus y filamentos mucosos) se drena con este sistema sin que sea percibido. Por el contrario, cuando hay lagrimeo excesivo, el sistema de excreción se sobrepasa derramando el exceso de lágrima sobre el borde del párpado (epífora).

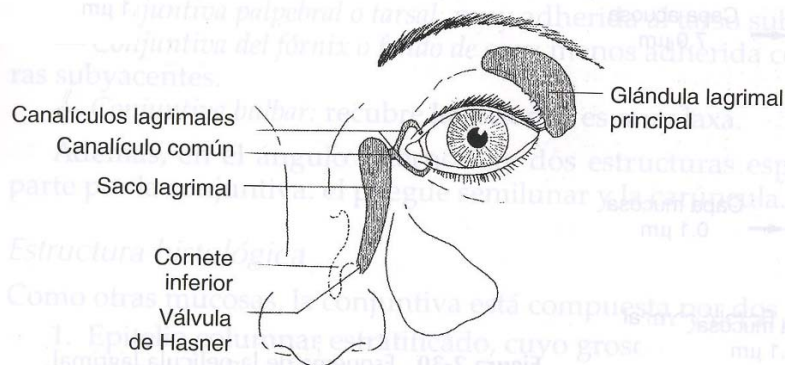


Figura 3. Sistema de excreción del sistema lagrimal.

Este sistema de unidad funcional lagrimal fue posteriormente actualizado por el DEWS que lo denominó **Sistema de superficie ocular**.⁵⁴ Esto representa un concepto más amplio que tiene características adicionales. Tal como se cita en el informe de DEWS el Sistema de superficie ocular consta de:⁵⁴

“El epitelio húmedo superficial y glandular de la córnea, la conjuntiva, la glándula lagrimal, las glándulas lagrimales accesorias, el conducto nasolagrimal y la glándula de meibomio, y sus matrices apical y basal, unidos como en un sistema funcional tanto por la continuidad del epitelio, por inervación, como por los sistemas endocrino e inmune”.

En este modelo también se incluyen porciones de los párpados en el sistema de la superficie ocular.

3.1.1 Estructura de la Película Lagrimal

Para describir la estructura de la PL normalmente se recurre al modelo de Wolff,⁵¹ el cual se refirió a la PL como una estructura trilaminar formada por una capa lipídica externa (0,1 -0,05 μ l), una capa acuosa intermedia (7 μ l) y una capa mucínica subyacente (0,02 -0,04 μ l)⁵¹. Posteriormente diversos autores criticaron este modelo sugiriendo que la PL era más compleja y que podría presentar más capas. Tiffany, basándose en el modelo de Wolff, concluye que la PL realmente estaría compuesta por seis capas, en lugar de tres. Prydal et al⁵⁵ sugirieron que el espesor de la PL se habría infraestimado y propusieron que la PL tendría un espesor de 40 μ m en lugar de 7 μ m. Actualmente se admite que las capas acuosa y mucosa no existen como tales entidades independientes, sino como una mezcla de ambas, con consistencia gelatinosa y con mayor concentración de mucinas en la zona más próxima a la córnea. Sin embargo, para efectos descriptivos resulta más ilustrativo utilizar el primer modelo trilaminar de Wolff para definir la estructura de la película lagrimal (**Figura 4**).

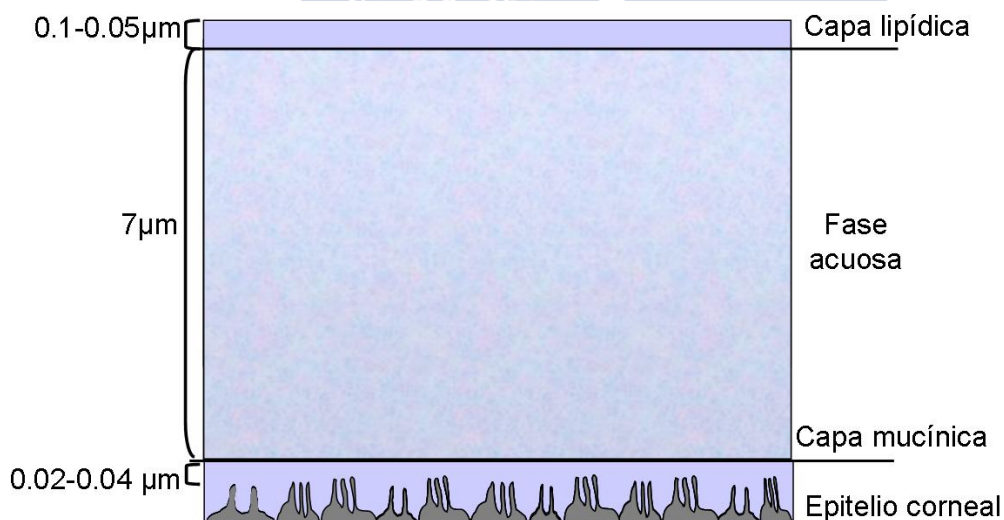


Figura 4. Estructura de la película lagrimal. Modelo de Wolff

Para obtener una PL estable, es muy importante que cada capa presente la calidad y cantidad adecuadas, así como que exista una buena interacción entre ellas,⁵⁶ ya que la PL juega un papel esencial en el mantenimiento de la estructura y función de la superficie ocular.²

3.1.1.1 Capa lipídica

Esta es la capa más delgada de la película lagrimal (0,1 - 0.05 μ m) y está secretada principalmente por las glándulas de meibomio, situadas en la conjuntiva tarsal superior (30-40 glándulas) e inferior (20-30 glándulas)⁴¹. Hay que señalar que no todas las glándulas de meibomio liberan el lípido simultáneamente, de echo, el número de glándulas activas en el párpado inferior (donde se recoge el lípido en la meibometría) depende de su localización a lo largo del borde del mismo. Las glándulas nasales son las que contienen mayor producción, seguidas de las centrales y en último lugar las temporales.^{57, 58} La capa lipídica se subdivide, a su vez, en dos capas adicionales⁵², una capa lipídica anterior formada por lípidos no polares, y una capa de lípidos posterior formada por lípidos polares, ácidos grasos libres y fosfolípidos.^{41, 59, 60}

La capa lipídica anterior o externa está en contacto con el aire, y está constituida por lípidos hidrofóbicos de baja polaridad, concretamente por ésteres de colesterol, ceras y triglicéridos. Esta capa de lípidos apolares es la principal responsable de la reducción de la evaporación de la lágrima.^{41, 59, 60}

La capa lipídica posterior, adyacente a la capa acuosa, está constituida por lípidos anfífilos, de alta polaridad (fosfolípidos, glicolípidos y esfingolípidos), cuyas moléculas se orientan paralelamente entre sí, formando una monocapa, que sirve de puente facilitando la extensión de la capa lipídica hidrofóbica (fase externa) sobre la capa acuosa hidrofílica de la lágrima.^{41, 59, 60}

Hay que señalar que los lípidos polares favorecen a la formación de PLIs más estables, mientras que los lípidos apolares estarían relacionados con PLIs más inestables.^{15, 41}

Se ha estimado que en un adulto normal hay alrededor de 300 μ g de lípido meibomiano en los bordes palpebrales (o reservorios marginales) y 9 μ g en la PL preocular.⁴¹

La capa lipídica es fundamental en la estabilidad de la PL. Bron et al⁴¹ enumeraron hasta siete funciones de la capa lipídica, de las cuales la función principal es la reducción de la evaporación acuosa de la superficie ocular así como proporcionar una superficie ópticamente lisa.

Además, La capa lipídica evita la contaminación de superficie de la PL con los lípidos de la piel, previene del derrame de la lágrima desde el borde palpebral y “sellan” los bordes de los párpados durante el sueño¹⁵.

Recientemente, Millar y Schuett⁶¹ cuestionaron que el papel de la evaporación en la estabilidad de la PL. Estos autores sugieren que, aunque el papel de la capa lipídica es mejorar la estabilidad de la PL, no lo llevaría a cabo reduciendo la evaporación lagrimal, si no más bien la función principal de la capa lipídica sería permitir la extensión de la PL en la superficie corneal, forzar una barrera y prevenir del colapso de la PL.

3.1.1.2 Capa acuosa

La capa acuosa es considerada la capa principal de la PL (7 μ m),^{51, 52} siendo el componente mayoritario y representando más del 98% de su espesor. Consiste en una compleja solución de electrolitos inorgánicos y sustancias orgánicas de alto y bajo peso molecular. Esta fase intermedia es la mayor componente de la PL con aproximadamente

un espesor de 6.5-7.5 μm .⁵¹ Está secretada principalmente por la glándula lagrimal principal, situada en el ángulo súpero-temporal de la órbita, y las glándulas lagrimales accesorias de Krause (20 en el fórnix conjuntival superior y 6-8 en el inferior)³ y Wolfring (localizadas principalmente en la conjuntiva supratarsal)^{3, 62}. En la producción lagrimal básica o fundamental intervienen todas las glándulas lagrimales (principales y accesorias), mientras que en la lagrimación refleja participa solamente la glándula lagrimal principal⁶².

Actualmente, esta fase se considera más un complejo muco-acuoso que solamente la fase acuosa³, y contiene muchas sustancias tal como electrolitos, iones hidrógeno, proteínas, enzimas y metabolitos que proporcionan las funciones propias de la PL, las cuales se comentarán más adelante en una sección aparte.

3.1.1.3 Capa mucínica

La PL necesita de un suministro constante de mucus, los cuales deben presentar unas cualidades físicas y químicas específicas para mantener las superficies conjuntival y corneal en un estado de hidratación adecuado. La capa mucínica (0.02 - 0.04 μm)⁵² representa el 0,2% del total de la PL y está formada por glicoproteínas secretadas principalmente por las glándulas de Globet. Estas glándulas unicelulares están situadas en la conjuntiva, con una población de aproximadamente 1,5 millones de glándulas, siendo más numerosas en la conjuntiva nasal³.

La función principal de estas sustancias es la disminución de la tensión superficial de la PL, de 70 a 39-42 dinas/cm, lo que permite extenderse la PL sobre la superficie ocular y mantenerla más estable². Una función clave de la capa mucínica es la humectabilidad de la superficie ocular, ya sea de forma libre o mediante la formación del glicocálix³. Otra función importante es también la lubricación de la córnea, lo que permite que los párpados se deslicen con la mínima fricción durante el parpadeo.^{51, 52} La capa mucínica también tiene una función bacteriostática, y protege la superficie ocular y las propiedades dióptricas durante el parpadeo². Por último, la capa mucínica también tiene la función de prevenir la adhesión de detritus o cuerpos extraños a la superficie ocular².

3.1.2 Composición de la Película Lagrimal

La composición de la PL se distribuye especialmente según las tres fases que la componen. La capa lipídica estaría formada principalmente por lípidos polares y no polares, secretados por las glándulas de meibomio. La fase principal acuosa de la PL contiene iones disueltos, solutos orgánicos y otros metabolitos. Finalmente, la capa mucínica está formada por glicoproteínas. La concentración de estas sustancias en cada capa se describe a continuación.

3.1.2.1 Capa lipídica

La composición de la capa lipídica contiene principalmente lípidos no polares (ésteres de cera, colesterol y ésteres de colesterol) que suponen el 60-70% del total, lípidos polares (principalmente fosfolípidos y glicolípidos) y proteínas surfactantes.^{41, 59} También se encuentran pequeñas cantidades de ácidos grasos libres y alcoholes derivado de las fracciones éster.⁵⁹

Millar y Schuett,⁶⁰ en una amplia revisión bibliográfica, encontraron que en el total de los lípidos meibomianos, los ésteres de colesterol presentaban un porcentaje molar alrededor del 30-45 %, cuyas cadenas acílicas generalmente son muy extensas. Por otra parte, los ésteres de cera representan el porcentaje molar en torno a 30-50%. Las

principales moléculas con carácter anfipático secretadas por las glándulas de meibomio son ácidos grasos, que son muy surfactantes. Éstas comprenden un porcentaje molar de un 4%. Finalmente, los triglicéridos estarían presentes en un 2%, el colesterol libre en menos del 0,5% y los fosfolípidos presentarían un porcentaje muy bajo, menor de 0,01%.⁶⁰

Una característica importante de esta capa, es que los lípidos presentan cadenas hidrocarbonadas saturadas muy largas (≥ 19 carbonos). Esto es debido a que los lípidos saturados con cadenas largas son muy resistentes a la evaporación. En este sentido se ha encontrado que los ácidos grasos más comunes en ésteres de colesterol son saturados con 24, 25 y 26 átomos de carbono, mientras que los alcoholes ácidos en los ésteres de cera también son saturados y tienen 24, 25 y 26 átomos de carbono.⁶³

Por otra parte, la capa lipídica tiene que poder recuperar su forma original después del proceso de *compresión - distensión* que sufre repetidamente durante los parpadeos, con lo que conserva sus propiedades⁵⁹. Sin embargo, esta capacidad está disminuida en las cadenas saturadas mientras que las cadenas insaturadas mejoran esta capacidad. Por lo tanto también son necesarios que estén presentes lípidos con cadenas insaturadas, tal como el ácido oleico.

Finalmente, King-Smith et al⁵⁹ proponen un modelo de la capa lipídica en el cual las largas cadenas saturadas se organicen formando una estructura donde la capa lipídica sea fluida y no se rompa con el parpadeo. Para ello, proponen dos modelos donde los lípidos se organizan “a modo de sándwich”(Figura 5). En este modelo incluye lípidos no polares y lípidos polares que, hacen de interfaz entre la capa acuosa y los lípidos no polares.

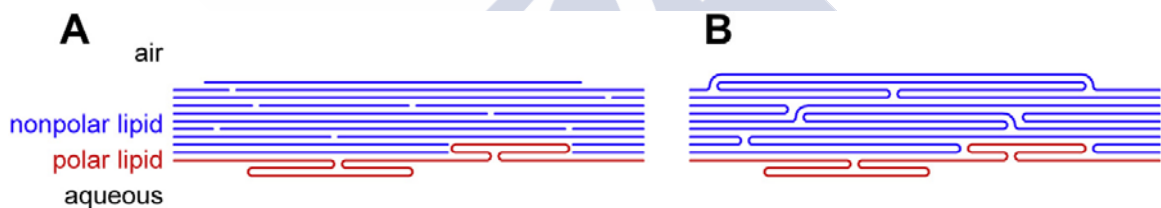


Figura 5. Posibles estructuras de la capa lipídica de la película lagrimal. Las líneas rojas representan láminas polares y líneas azules representan laminas no polares. (A) modelo de láminas no polares “en placas”. (B) Modelo de láminas no polares plegado. Extraído de King-Smith, et al⁵⁹

3.1.2.2 Capa acuosa

La capa acuosa es una solución compuesta de proteínas antibacteriales (lisozima y lactoferrina), albúmina, lipocalina, factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento nervioso, inmunoglobulinas A, G, M, E y otras proteínas, glucosa, glucógeno, oxígeno, úrea y otras sales orgánicas que proveen de nutrientes a la cornea avascular.^{2, 52, 64}

El contenido total de proteínas en la lágrima basal varía entre 0,14 - 4.5 g/100 ml, con un valor medio de 0,7 g/100 ml,⁶⁴ donden se han identificado más de 60 tipos de proteínas en la lágrima. Cabe citar algunas, como la albúmina, o también la lipocalina, que es una proteína ácida que predomina en las lágrimas.^{2, 52} La lipocalina puede unirse y transportar lípidos endógenos. Además contribuye en la estabilidad, ya que la deficiencia de esta proteína puede ocasionar que los lípidos pueden precipitarse fuera de la lágrima desestabilizando la PL.⁵² La lisozima y la lactoferrina tienen propiedades antibacterianas. La lisozima es una enzima glucolítica de cadena larga y alto peso molecular cuya concentración en la lágrima es mayor que en el resto de fluidos

corporales. La lactoferrina es una proteína que alcanza en lágrima normal valores medios de 1'75 g/l, constituyendo otro 25% de las proteínas lacrimales normales y es más bacteriostática que bactericida.⁶⁴ La inmunoglobulina A (IgA) es la inmunoglobulina predominante en la lágrima y se considera la primera línea de defensa. También se han identificado doce enzimas en la lágrima, tales como lactato deshidrogenasa, piruvato quinasa, malato deshidrogenasa y amilasa.⁶⁴

Con respecto a los electrolitos, en la lágrima se puede encontrar agua, sodio, potasio, magnesio, calcio, cloruro, bicarbonato e iones fosfato.^{2, 52}

Los cambios en su composición ocurren muy rápido en respuesta a las condiciones ambientales o corporales y pueden influir la salud, proliferación, maduración y el movimiento de las células epiteliales. Muchos de los factores de crecimiento que están presentes en la fase acuosa provienen de la glándula lagrimal². De acuerdo a los modelos actuales, la disminución de la secreción acuosa resulta en una disminución de la concentración de factores de crecimiento en la lágrima, lo que puede afectar la salud de la superficie ocular².

También se ha encontrado que la glándula lagrimal secreta varias citoquinas, incluyendo interleuquina 1, factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento epidérmico y factor de crecimiento transformado beta-1, y opinan que estos componentes mantienen la homeostasis y promueven la salud de la superficie ocular. Posee además iones y moléculas incluyendo electrolitos (Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ y K⁺) e iones de hidrógeno⁶².

3.1.2.3 Capa mucínica

Principalmente está compuesta por glicoproteínas unidas por enlaces O glucosídicos. Los principales azúcares son ácido siálico, galactosa, glucosa y N-acetil glucosamina.⁵²

Las mucinas consisten en unas proteínas ricas en serinas y treoninas que están ligadas a una gran variedad de cadenas laterales de oligosacáridos unidos por enlaces O glucosídicos. Estas cadenas laterales otorgan más del 70% del peso de la molécula. Las mucinas de la PL se clasifican en dos tipos: mucinas transmembrana y mucinas secretoras. A su vez, éstas últimas también se clasifican en mucinas secretoras formadoras de gel y no formadoras de gel o pequeñas⁶⁵.

Las mucinas transmembrana tienen varias funciones, como mantener la hidratación de la superficie ocular, proporcionar lubricación y propiedades antiadhesivas entre las células de la superficie ocular y la conjuntiva durante el parpadeo y contribuir a la barrera epitelial. Cabe citar las mucinas MUC1, MUC4 y MUC16 que están presentes en la córnea y conjuntiva, así como en la glándula lagrimal. MUC1 es la más pequeña de las tres, siendo MUC16 la mayor. También cabe nombrar las mucinas MUC15 y MUC20, aunque no se conocen qué tipos de células expresan estas sustancias⁶⁵.

Las mucinas secretoras pequeñas son importantes en la salud de los tejidos, aunque se desconoce la función que tienen en la PL. Probablemente en la PL tienen funciones de contribución a la hidratación del tejido, así como la prevención de la colonización bacteriana. Cabe destacar la MUC7 que es una mucina monomérica soluble. Su función en la superficie ocular no está del todo clara, ya que aunque está presente en la glándula lagrimal y en la conjuntiva, no se ha encontrado en muestras de lágrima. Se cree que está involucrada en la prevención de la unión de patógenos⁶⁵.

Las mucinas secretoras formadoras de gel también son importantes para la hidratación y lubricación de la superficie ocular. Comprenden las mucinas MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 y MUC19. Estas mucinas son las glicoproteínas más grandes y son secretadas principalmente por las células de Goblet, donde la MUC5AC es la más abundante⁶⁵.

El glicocáliz que forma la mucina está compuesta por las mucinas transmembranas MUC1, MUC4 y MUC16. Estas mucinas del glicocáliz interactúan libremente con las mucinas de las células de Globet MUC5AC y MUC2 que se distribuyen sobre la superficie ocular por medio del parpadeo⁴¹.

3.1.3 Funciones de la Película lagrimal

Las funciones de la PL, como se ha comentado anteriormente, corresponden a las funciones desempeñadas por la capa acuosa. Desempeña importantes funciones como:⁵²

3.1.3.1 Función óptica.

La PL rellena las irregularidades del epitelio corneal, proporcionando de ese modo una superficie óptica perfecta, lisa y regular. Por lo tanto, la ausencia de la PL provocaría una visión borrosa. El índice de refracción de la lágrima (n=1,334) es similar al de la córnea (n=1,376) por lo que la PL y córnea se pueden casi comportar como un único dioptrio. Hay que tener en cuenta que la superficie corneal anterior presenta una potencia dióptrica muy alta (48,35 D), derivada principalmente por el salto de índice de refracción entre el aire (n=1) y esta superficie (n=1,376). Por lo que cualquier irregularidad en la superficie ocasionaría graves consecuencias en la visión.⁶⁴

3.1.3.2 Función lubricante.

Esto permite reducir al mínimo la fricción entre los márgenes palpebrales y la conjuntiva palpebral durante el parpadeo.⁶⁴

3.1.3.3 Función humectante.

la lágrima se extiende sobre el epitelio manteniendo un ambiente húmedo para las células epiteliales que, de otra forma, se resecarían y queratinizarían.⁶⁴

3.1.3.4 Función de limpieza.

La PL, junto con la acción del parpadeo, elimina los desechos y las células epiteliales descamadas del epitelio. Algunas partículas son disueltas, mientras que otras son movidas por el parpadeo hasta eliminarse por los puntos lagrimales si su tamaño es pequeño, o por el lago lagrimal y el canto interno si su tamaño es mayor.⁶⁴

3.1.3.5 Función antimicrobiana.

La PL es la primera línea de defensa contra la infección ocular frente a los gérmenes patógenos de dos maneras: directamente, mediante sus diversos componentes (lisozima, Ig, y otros) que atacan los gérmenes, e indirectamente, ofreciendo condiciones poco favorables para el desarrollo de los mismos, tales como su bajo contenido en glucosa o su flujo continuo. Los componentes antimicrobianos de la lágrima son: la beta-lisina, transferrina, lactoferrina, IgA, IgG, IgM, IgE, enzimas, lisozima y fracciones de complemento. La lágrima es un medio de transporte para diversas células implicadas en la defensa del organismo (leucocitos). El pH lagrimal no permite el crecimiento de ciertos gérmenes, la baja temperatura también constituye un mecanismo de defensa contra microorganismos.^{52, 64}

3.1.3.6 Función inmunológica.

Es una función de defensa más amplia y general que la antimicrobiana, porque no sólo reacciona contra microorganismos sino contra cualquier factor externo que pueda producir daño tisular (agentes químicos y físicos, lesiones inmunológicas, cambios metabólicos). La lágrima cumple su función inmunológica por medio de sus

componentes proteicos: IgA, IgM, IgE, IgG (en menor cantidad), enzimas (lisozima), fracciones del complemento, transferrina, lactoferrina, y betalisisina. Además, la lágrima es vía para leucocitos en casos de lesión. Las lágrimas contienen anticuerpos específicos de Ig A para algunos antígenos, incluyendo Herpes virus simple, VIH, adenovirus, Epstein Barr virus, *Streptococcus epidermidis* y *Chlamydia trachomatis*.^{52, 64}

3.1.3.7 Función metabólica.

La superficie de la córnea debe ser avascular para garantizar su transparencia. Por lo tanto, la nutrición es impulsada por la película lagrimal. La glucosa es la fuente principal de energía casi exclusivamente para el metabolismo corneal y estromal. La permeabilidad epitelial corneal a la glucosa es muy baja, casi 100 veces menor que la del endotelio corneal, por lo que se supone que la glucosa lagrimal poco influye en el metabolismo corneal.

En condiciones normales, la película lagrimal está en contacto directo con la atmósfera, que es la fuente principal de oxígeno corneal. Asimismo, la córnea vierte a la PL anhídrido carbónico que procede de su metabolismo. Cuando el aporte de oxígeno disminuye el metabolismo corneal se hace por vía anaeróbica, aumentando la cantidad de ácido láctico en la córnea, que a su vez pasará a la lágrima. Es posible que algunos minerales y enzimas que contiene la lágrima ayuden en menor escala al metabolismo corneal.^{52, 64}

3.2 SÍNDROME DE OJO SECO

El síndrome de ojo seco (SOS) es una afección ocular que en los últimos años ha aumentado su prevalencia hasta afectar a un 10-35% de la población,^{4, 11, 13} debido principalmente a varios factores que desestabilizan la PL: ambientes nocivos (polución, humos, etc), aumento de tareas visuales que disminuyen la tasa de parpadeo (sobre todo cuando se realizan con el ordenador) y el mayor uso de antihistamínicos, antihipertensivos, etc⁶⁶. Además, con la edad tanto la producción como la estabilidad de la PL disminuye, con lo que estos factores contribuyen a la sintomatología de ojo seco¹¹.

El concepto del SOS ha evolucionado con el tiempo y no siempre hubo una concordancia clara. Al principio se consideraba una disminución de la cantidad de lágrima que se conocía como *queratoconjuntivitis sicca*, hasta que más tarde en 1995 el ojo seco se consideró como un trastorno de la película lagrimal debido a una deficiencia lagrimal o a una evaporación excesiva⁶⁷.

Posteriormente, el *Taller Internacional sobre Ojo Seco* (DEWS) definió en 2007 el SOS de forma más completa, incluyendo todos los aspectos que influyen en esta enfermedad de la siguiente forma:¹⁴

“El ojo seco es una enfermedad multifactorial de la película lagrimal y la superficie ocular que causa síntomas de malestar, trastornos visuales, e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial en la superficie ocular. Va acompañada por un aumento en la osmolaridad de la película lagrimal e inflamación en la superficie ocular”.

Existen tres aspectos importantes que se deben destacar en esta nueva definición son:

a) El ojo seco es una enfermedad inflamatoria y por lo tanto debe presentar daño en la superficie ocular.

b) Por otro lado, la hiperosmolaridad lagrimal está presente en todos los tipos de ojo seco,⁶⁸ siendo la causa principal de la inflamación de la superficie ocular.

c) El SOS presenta una etiología multifactorial por lo que el diagnóstico es complicado, ya que implica la realización de una batería de pruebas clínicas para obtener un diagnóstico adecuado.²¹

Desde el punto de vista etiológico, el SOS se divide en dos tipos principales: ojo seco por falta de secreción acuosa o por deficiencia lagrimal (OSDL) y ojo seco evaporativo (OSE).

- **Ojo seco por deficiencia lagrimal (OSDL).**¹⁴ El problema fundamental lo causa un déficit en la secreción lagrimal. Esto provoca hiperosmolaridad, ya que aunque la tasa de evaporación de la lágrima es normal, la reserva lagrimal está reducida.

Dentro del OSDL existen dos tipos principales, el ojo seco asociado al **Síndrome de Sjögren (SS)** y no asociado al SS, donde las glándulas lagrimales y salivales están afectadas por un proceso autoinmune.

*OSDL asociado al SS:*¹⁴ el SS es un proceso autoinmune que destruye las glándulas salivales y lagrimales, puede ser primario y secundario. La sequedad ocular en el OSDL asociado al SS se debe a la hiposecreción lagrimal y los cambios inflamatorios característicos en la glándula lagrimal que lo acompañan, además de la presencia de mediadores inflamatorios en la lágrima y dentro de la conjuntiva.

*OSDL no asociado al SS:*¹⁴ Causado principalmente por una disfunción lagrimal donde se excluyen las características sistémicas autoinmunes del SS. Se pueden citar varios subtipos, donde el más común es el ojo seco relacionado con la edad. Otras causas son también la Alacrimia congénita o la disautonomía familiar. Existe también el OSDL causado por deficiencias secundarias de la glándula lagrimal tales como infiltración de la glándula lagrimal, Sarcoidosis, Linfoma, SIDA, ablación y/o denervación de la glándula lagrimal, entre otros. La obstrucción de los conductos de las glándulas lagrimales también puede causar ojo seco, y se produce principalmente por una cicatrización, donde cabe citar el penfigoide cicatricial, el eritema multiforme y las quemaduras. Finalmente la denervación sensorial también puede ser causa de ojo seco reduciendo la secreción lagrimal y la frecuencia de parpadeo. Como causas de denervación sensorial cabe citar el uso de lentes de contacto (principalmente rígidas), diabéticos y en la queratitis neurotrófica. En general, el OSDL está asociado al déficit de volumen lagrimal, donde las pruebas clínicas más adecuadas para el diagnóstico son los test de cantidad o volumen lagrimal, que es el objeto de este trabajo.

- **Ojo seco evaporativo (OSE).**¹⁴ Causado principalmente por una pérdida excesiva de lágrima de la superficie ocular siendo normal el sistema de secreción acuosa. En este tipo de ojo seco el volumen y la composición de la lágrima son adecuadas mientras que existen otras causas intrínsecas (enfermedad periocular) y/o extrínsecas (medio ambiente) que provocan el aumento de evaporación lagrimal. Este es el tipo de ojo seco más frecuente en pacientes jóvenes y está muy relacionado con las condiciones ambientales y el uso de lentes de contacto, siendo la causa principal la disfunción de glándulas de meibomio. Cabe citar que las condiciones actuales de trabajo, como el uso de videoterminals, han aumentado considerablemente el OSE. Las pruebas clínicas que investigan este tipo de ojo seco están más relacionadas con la estabilidad y/o calidad de la película lagrimal.

Se debe señalar que el ratio de parpadeo juega un papel importante en la estabilidad de la PL. Si la tasa de parpado se reduce, el periodo entre parpadeos se incrementa, lo que provoca una mayor evaporación e inestabilidad de la PL.⁵⁶ Esto ocurre principalmente durante tareas que requieran atención, tal como la lectura, lo que es

especialmente crítico cuando se realiza con un ordenador. Las lentes de contacto también causan inestabilidad de la PL y ojo seco, ya que éstas rompen la PL. De echo, la principal causa de intolerancia al uso de lentes de contacto es el discomfort y la sequedad ocular.⁴⁶

Se debe señalar que aunque se presente esta división etiológica, realmente ambas condiciones no se excluyen, es decir, pueden coexistir mutuamente o provocar/agravar otro tipo de ojo seco. (un ojo seco por déficit de lágrima puede desarrollar eventos que condicionen la aparición de un tipo de ojo seco evaporativo y viceversa)³⁷

3.2.1 Etiopatogenia del síndrome de ojo seco.

Los mecanismos principales para ocasionar el SOS son la hiperosmolaridad lagrimal y la inestabilidad de la PL¹⁴, aunque otros autores también incluyen la inflamación ocular como mecanismo desencadenante de ojo seco³⁷.

La osmolariad de la PL elevada, o hiperosmolaridad lagrimal, se considera el mecanismo central causante de los síntomas, inflamación y daño de la superficie ocular, así como los eventos compensadores del ojo seco. Esta hiperosmolaridad de la lágrima puede ser secundaria a una evaporación de la PL, una dificultad en la secreción de la lágrima o una combinación de ambos.

Una vez que se produce la hiperosmolaridad de la PL, se estimula una cascada de eventos inflamatorios en las células de la superficie epitelial y la liberación de citocinas inflamatorias. Estos efectos inflamatorios conducen a la apoptosis de las células epiteliales incluidas las células caliciformes, por lo que disminuye la estabilidad de la PL. En estadios iniciales el daño de la superficie ocular causa una estimulación refleja de la glándula lagrimal. Asimismo, la estimulación excesiva de la glándula lagrimal podría conducir a un estado de “agotamiento lagrimal”. Por otra parte, algunos estudios sostienen que la sensibilidad corneal se va reduciendo con lo que disminuiría la secreción refleja.⁵⁴

En algunas formas de ojo seco la inestabilidad de la PL puede ser el factor desencadenante, tal como en grados leves de inestabilidad que en respuesta al estrés de la superficie ocular pueden predisponer a las complicaciones del ojo seco. Un claro ejemplo es cuando el tiempo de ruptura lagrimal (BUT) es bajo, lo que conduce a una ruptura de la PL, conduciendo a una sequedad local y a una hiperosmolaridad. Esto también ocurre en los casos de Xeroftalmía y en la alergia ocular. Asimismo, el uso de conservantes en la medicación tóptica, como el cloruro de Benzalconio, puede ocasionar esta cascada de eventos. Por último el uso muy prolongado de LC también favorece la aparición del ojo seco, ya que se ha visto que las LC hidrofílicas pueden causar metaplasia epitelial y disminución de las células caliciformes.¹⁴

El ojo seco también puede ser resultado la inflamación ocular, ya que la inflamación resultado de una enfermedad autoinmune, o incluso el envejecimiento, pueden incitar la aparición de ojo seco⁶⁹.

En la **Figura 6** se muestra un esquema de la cascada de eventos durante el SOS sugerido por el DEWS.

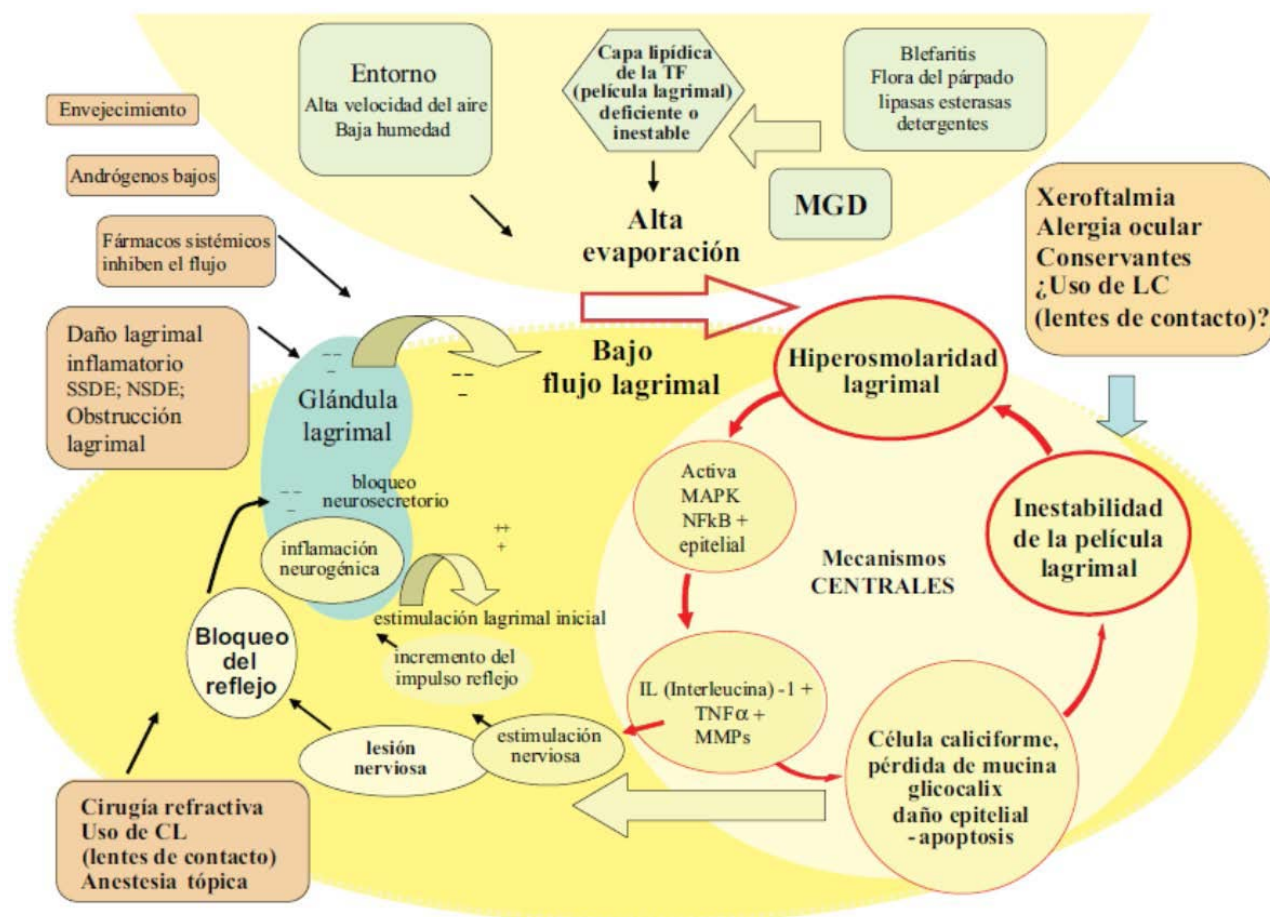


Figura 6. Fisiopatología del ojo seco según DEWS.¹⁴ Abreviaturas. SSDE: ojo seco asociado a síndrome de Sjögren, NSDE: ojo seco no asociado a síndrome de Sjögren. MGD: disfunción de la glándula de Meibomio. MAPK: Proteinquinasa. NFκB: factor nuclear de las células B. TNFα: factor de necrosis tumoral (citocina proinflamatoria).MMPs: metaloproteinasas.

3.2.2 Semiología.

El paciente con SOS presenta una sintomatología diversa, donde muchos síntomas pueden ser ocasionados por otras patologías, por lo que se ha referido que el diagnóstico de SOS no se puede realizar únicamente con la evaluación de los síntomas.

La base de los síntomas de ojo seco radica principalmente en que la hiperosmolaridad e inestabilidad de la PL, así como la inflamación de la superficie ocular causan lesión en el epitelio corneal. La lesión del epitelio corneal estimula las terminaciones nerviosas corneales, causando síntomas de incomodidad, aumento del parpadeo y mayor secreción refleja. A su vez, la reducción del volumen lagrimal y la pérdida de las mucinas en la superficie ocular incrementa la fricción entre los párpados y el globo ocular, lo que exacerba los síntomas¹⁴.

Normalmente, el paciente de SOS puede referir irritación ocular, arenillas o sensación de cuerpo extraño, quemazón, lagrimeo, escozor o dolor agudo intermitente. También refieren síntomas visuales como fotofobia o visión borrosa que mejora con el parpadeo¹⁷.

Por otro lado, los signos de ojo seco más comunes encontrados durante la observación de la lámpara de hendidura (LH) son erosiones corneales superficiales, hiperemia conjuntival, irregularidades de la superficie conjuntival o signos de disfunción de las glándulas de meibomio, entre otros¹⁷.

Nichols et al. refirieron que el síntoma más común del SOS era la sequedad (98,7%), seguido por la fatiga ocular (85,1%), sensación de arenilla (78,5%), enrojecimiento (71,6%) y dolor (64,8%)⁷⁰. Sin embargo, otros estudios han encontrado que la fatiga ocular es el síntoma más frecuente, seguido por sequedad ocular⁵². Otros síntomas también presentes en el SOS son irritación, sensación de cuerpo extraño, quemazón, presencia de filamentos de mucus y visión borrosa transitoria⁵².

Begley et al⁷¹ estudiaron la sintomatología de ojo seco en un total de 1054 pacientes observados en seis establecimientos clínicos, mediante el uso de dos cuestionarios estandarizados. Encontraron que el síntoma más común era el discomfort ocular.

Kawashima et al⁷² realizaron una encuesta vía Internet para obtener la sintomatología de los usuarios de ordenador, ya que el uso de videoterminals está íntimamente relacionado con el ojo seco⁷³. 980 sujetos respondieron la encuesta, de los cuales 350 eran sintomáticos y 100 accedieron a un examen ocular. De estos últimos el síntoma referido más frecuentemente por los sujetos fue fatiga ocular (90% de los sujetos), seguido de sensación de ojo seco (66%) y discomfort (66%). Otros síntomas fueron visión borrosa (53%), sensación de cuerpo extraño (43%) y picazón (40%). Los síntomas menos frecuentes fueron hiperemia (38%), sensibilidad a la luz (37%), dolor (33%) y lagrimeo (21%). Sin embargo se debe indicar que este estudio estaba dirigido a una población específica (usuarios de videoterminals) y que el criterio para el diagnóstico de ojo seco se determinó por la presencia de más de 5 síntomas y un Schirmer < 5 mm, sin considerar ningún test de estabilidad lagrimal.

En un estudio reciente, Williamsom et al⁷⁴ realizaron una encuesta entre 100 profesionales de la visión (optometristas y oftalmólogos) para determinar, entre otras cosas, cuál era el síntoma más referido por los pacientes. Los profesionales indicaron que el síntoma más frecuente era el quemazón (46,5%) seguido por la sensación de cuerpo extraño (30,3%) y lagrimeo (17,2%). Los síntomas menos frecuentes fueron picazón y la incapacidad para llorar y trabajar.

Se puede apreciar que existe controversia en la frecuencia de síntomas de los pacientes de ojo seco. Esto puede ser debido a los diferentes criterios utilizados para el diagnóstico. A su vez, existe muy poca relación entre los signos objetivos, los tests clínicos y los síntomas de ojo seco⁷⁰. De hecho, pacientes sin signos de ojo seco pueden presentar síntomas y viceversa. En este sentido, Vehof et al⁷⁵ realizaron un estudio basándose en la hipótesis que dado que la córnea es una de las partes más sensitivas del ser humano, la sensibilidad al dolor podría jugar un papel en la experiencia de la sintomatología de SOS. Estos autores encontraron que los pacientes diagnosticados de SOS presentaban una alteración en la percepción del dolor, observando que los pacientes con SOS y sintomatología presentaban un umbral del dolor menor que los sujetos controles. Asimismo, los pacientes con un umbral al dolor menor que la media tenían el doble de probabilidad de referir síntomas de ojo seco que los pacientes cuyo umbral del dolor estaba por encima de la media.

3.2.3 Epidemiología.

En los últimos años el SOS ha aumentado la prevalencia, motivado fundamentalmente por el actual estilo de vida y el aumento de otros factores que pueden desestabilizar la PL y desencadenar SOS.¹¹

Uno de los factores que cabe destacar es el aumento de la polución o contaminación atmosférica. Así, en las grandes ciudades existe un aumento de las emisiones de los escapes de los automóviles o de las instalaciones industriales que pueden contaminar el aire⁷⁶, mientras que en el rural se ha mejorado la tecnología⁷⁷. Todo ello conlleva a un aumento de la inestabilidad de la PL y del SOS⁷⁸. Cabe citar un estudio realizado en

Nigeria donde se ha observado que los niños que vivían cerca de tres compañías petrolíferas presentaban en la PL compuestos tóxicos como tetraetilo de plomo y negro carbón⁷⁹. Asimismo, se ha encontrado que la exposición a altos niveles de polución atmosférica puede llevar a alteraciones del borde palpebral.⁸⁰

La falta de humedad o el aumento de la temperatura también están relacionadas con el aumento de la evaporación de la PL, especialmente en oficinas donde se realizan tareas de alta demanda visual y cognitiva. En este caso, la PL de los sujetos además de estar influenciada por la humedad y el aumento de la temperatura, también se puede afectar por la contaminación interior o la mala calidad del aire.⁸¹

El uso de ordenadores o videoterminales ha aumentado considerablemente en los últimos años, ya que el ordenador, además de una herramienta de trabajo, se ha convertido en un electrodoméstico más en los hogares comunes. Se ha visto que la atención prolongada a la pantalla del ordenador causa síntomas de ojo seco e incluso se ha encontrado una clara relación entre el uso de videoterminales y el riesgo de SOS.⁷³ Esto es debido principalmente a una mayor evaporación de la PL debido a la reducción de la tasa de parpadeo,⁸² aunque también puede ser debido a una disfunción de la glándula lagrimal.⁸³ Todo esto, junto a los síntomas de astenopía ocular, ha llevado a la descripción del cuadro conocido como “*síndrome de la visión de computadora*”, donde el ojo seco contribuye principalmente a la sintomatología de los pacientes.⁸⁴

Actualmente el porte de LC está muy extendido en todo el mundo, donde en el año 2011 se registraron alrededor de 140 millones de usuarios, de los cuales un 85% eran usuarios de LC hidrofílicas o de silicona hidrogel. Sin embargo, un 50% de los usuarios de LC refiere síntomas de sequedad ocular,⁵ siendo éste el principal motivo por el que muchos usuarios reducen el porte o utilizan las LC de manera discontinuada.⁶ Varios autores han encontrado que los usuarios de LC hidrofílicas con alto contenido en agua tienen más posibilidades de padecer ojo seco,⁸⁵ aunque existe controversia en este tema.⁸⁶

La cirugía refractiva también ha aumentado en estos años, donde se ha visto que está íntimamente relacionada con el SOS. En la cirugía LASIK, se ha propuesto que la disminución de la sensibilidad corneal secundaria a la intervención, lo que ocasiona disminución del parpadeo y de secreción lagrimal.⁸⁷ Se ha encontrado una prevalencia de ojo seco derivado de la intervención LASIK del 48%, aunque estos datos dependen del diseño del estudio.⁸⁸

Además de estos factores, cabe citar otros como el aumento del uso de antihistamínicos, antihipertensivos,⁶⁶ o una dieta baja en ácidos grasos esenciales omega 3,⁸⁹ entre otros. Todos estos factores, junto con el envejecimiento de la población (donde la secreción y estabilidad lagrimal disminuyen con la edad) incrementan la prevalencia de SOS en la población.

Las cifras de prevalencia varían entre distintos autores, motivado principalmente por los distintos criterios para definir el SOS. Además, dada la falta de fiabilidad de muchas pruebas de SOS y a la falta de consenso en los protocolos de exploración, normalmente los estudios de prevalencia se han basado en el estudio de los síntomas. Esto es muy pertinente, ya que el SOS es una enfermedad sintomática donde los cuestionarios de los síntomas son de las pruebas más repetibles.

Paulsen et al⁹⁰ en un estudio con 3275 participantes de todas las edades encontraron una prevalencia de SOS del 14,5% (17,9% mujeres y 10,5% varones). Asimismo refirieron que el riesgo de padecer SOS se incrementaba en el sexo femenino, uso de LC, enfermedad tiroidea, y con el uso de antihistamínicos y esteroides. Asimismo estos autores encontraron que el SOS estaba relacionado con una baja calidad de vida.

Onwubiko et al⁹¹ determinaron la prevalencia de SOS en una población entre 18 y 94 años que asistía a una revisión ocular de forma ambulatoria en Nigeria. De los 402 participantes un 19,2% presentaban SOS y estaba asociada a los pacientes > de 40 años.

En un estudio realizado en Irán donde el diagnóstico de ojo seco se basaba en la exploración de síntomas con el cuestionario OSDI y la evaluación de tests objetivos, Hashemi et al⁹² encontraron una prevalencia de SOS del 8,7% en un total de 1008 sujetos entre 40-46 años de edad. También encontraron que la prevalencia de ojo seco era mayor en mujeres.

Se pueden seguir citando muchos más artículos de epidemiología de SOS, pero dados los distintos diseños y criterios de diagnóstico utilizados, los datos de prevalencia varían de unos estudios a otros. Se puede asumir que los datos de prevalencia estarían entre el 5% y el 35%,¹² y que si sólo se consideran los usuarios de lentes de contacto la prevalencia es incluso mayor.⁹⁰ Por otra parte, los estudios en los países asiáticos sugieren que la prevalencia en esos países es mayor, llegando a alcanzar el 35%.¹²

De la misma forma, según grandes estudios epidemiológicos, se ha encontrado que la edad y el sexo femenino aumentan el riesgo de padecer SOS.^{90, 92}

3.2.4 Morbilidad del ojo seco.

El SOS supone un problema de salud pública, dada la alta prevalencia que ha alcanzado en los últimos años. Está íntimamente ligada con el estilo de vida actual, donde el uso de los ordenadores, móviles e incluso tabletas, que forman parte de la vida diaria, pueden aumentar el SOS.⁷³ Además, esta enfermedad es más prevalente en la gente de mayor edad, lo que implica un aumento en la prevalencia dado el envejecimiento de la población.

Es necesario determinar el curso natural del SOS, incluyendo los factores de pronóstico, la probabilidad de la evolución de la enfermedad y las tasas de adherencia y discontinuación del mismo, así como el efecto a largo plazo del uso de lubricantes.¹²

El ojo seco produce una serie de síntomas que afectan a la vida diaria del paciente que pueden más severos o incapacitantes según la gravedad de la enfermedad. Rara vez el SOS puede causar ceguera o disminución de la visión de forma permanente.⁹³ Sin embargo, si el SOS se mantiene sin ser tratado, puede dañar los tejidos de la superficie ocular y causar disminución de la visión.⁹⁴ También hay que considerar que cuando el paciente con SOS tiene SS, muchos sistemas orgánicos pueden estar afectados por lo que estos pacientes tienen una menor calidad de vida. En este sentido se ha encontrado que los pacientes con síndrome de Sjögren presentan fatiga, ansiedad y depresión.⁹⁵

En relación a la morbilidad ocular asociada al SOS, éste puede estar asociado con un mayor riesgo de infección, aunque no hay mucha información del riesgo de infección en el SOS.¹² Por otro lado, el SOS induce intolerancia a las LC disminuyendo su uso, y puede presentarse o empeorar después de la cirugía refractiva. Por último, se ha visto se la cirugía de cataratas en pacientes de SOS puede estar asociada con morbilidad ocular.¹²

3.2.5 Ojo seco en la función visual y calidad de vida.

El SOS limita y degrada la capacidad visual, lo que afecta considerablemente a todas las actividades de la vida diaria que requieran tareas visuales.

Existe un método formal para cuantificar el impacto relativo de un estado de salud o enfermedad determinado. Este método, denominado “evaluación de la utilidad”, utiliza una escala continua entre 0 y 1, donde el 0 indica la peor calidad de vida (próxima a la muerte) y 1 se corresponde con la mejor calidad de vida (similar a la salud plena).

Buchholz et al⁹⁶ encontraron que los pacientes de ojo seco asintomáticos cuantificaban un valor de 0,68, similar a “algunas limitaciones físicas y de conducta con dolor ocasional”. Por otro lado, los pacientes con ojo seco severo, obtuvieron una puntuación de 0,56, similar a los pacientes con diálisis (0,56-0,59) o angina severa (0,5).

Por otro lado, Schiffman⁹⁷ et al en una muestra de 56 pacientes diagnosticados de SOS leve, moderado y severo, obtuvieron que los diagnosticados como ojo seco moderado presentaron un valor de 0,78, mientras que los pacientes con ojo seco severo presentaban una puntuación de 0,72.

Por lo tanto el impacto del SOS en la calidad de vida se puede calificar de forma similar al efecto de la angina moderada, y en casos muy severos de SOS, equiparse a la diálisis o la angina severa.^{96, 97} De hecho, entre los pacientes con ojo seco, es muy común que refieran quejas por mala visión, describiéndolo como borrosidad, visión distorsionada o visión con neblina, que se aclara temporalmente con el parpadeo. Debido a la inestabilidad de la PL, se produce un aumento de la evaporación con lo que la irregularidad de la superficie ocular se hace presente, lo que provoca cambios de visión transitorios en el paciente de ojo seco. Además, las aberraciones generadas por la ruptura de la PL entre parpadeos también contribuyen a disminuir la calidad de la imagen retiniana, como se ha visto mediante técnicas objetivas y subjetivas.⁹⁸

Estos cambios transitorios pueden ser profundos, resultando en disminución importante de la agudeza visual y la sensibilidad al contraste, lo que afecta considerablemente a la productividad en el trabajo y a la calidad de vida.⁹⁸

En este sentido, el SOS afecta la calidad de vida de distintas formas. La sensación de dolor, irritación y molestias afecta negativamente al bienestar del paciente, ya que estos síntomas pueden afectar de forma física y psicológica en la calidad de vida del paciente. Por ejemplo, la alteración de la visión puede reducir la capacidad de realizar actividades de la vida diaria, como el conducir, o la necesidad de instilación frecuente de lubricantes oculares pueden afectar las interacciones sociales y del trabajo.

3.2.6 Impacto económico del Síndrome de ojo seco.

Como se ha visto anteriormente, el SOS afecta a millones de personas en el mundo, lo que conlleva a implicaciones socioeconómicas significativas, tal como en el impacto de las tareas de la vida diaria tanto sociales como físicas, la productividad en el puesto de trabajo^{99, 100} y el gasto en el uso de los servicios sanitarios, tanto consultas clínicas como el uso de medicación.¹⁰¹⁻¹⁰³

A pesar de que el SOS tiene poca probabilidad de causar ceguera o disminución de la visión de forma permanente,⁹³ sí afecta considerablemente a tareas necesarias en el puesto de trabajo, tal como el uso del ordenador, la dificultad en la lectura o en la conducción, entre otros.⁷

Se han encontrado evidencias de que el SOS afecta a la productividad en el trabajo. De este modo, Reddy et al⁹⁹ mostraron que los pacientes con ojo seco sufrían los síntomas en su puesto de trabajo entre 191 y 208 días al año, lo que afectaba en su rendimiento laboral.

Por otro lado, Yamada et al,¹⁰⁰ en un estudio realizado en Japón, evaluaron el impacto del SOS en el rendimiento laboral de 355 sujetos y encontraron que había una relación entre el coste económico de baja productividad en el trabajo y el ojo seco. Calcularon que este coste asociado a SOS era de 799 dólares USA (\$) por persona. Teniendo en cuenta que se ha reportado que hay entre 12,7 y 17,8 millones de trabajadores con SOS en Japón, se estima una pérdida de productividad anual entre 9000 y 15000 millones de \$.

Patel et al¹⁰⁴ realizaron una encuesta en trabajadores de Estados Unidos diagnosticados por ojo seco por una puntuación del cuestionario OSDI ≥ 13 y encontraron que los síntomas de ojo seco tenían una mayor pérdida de productividad en el trabajo y perdían de 2 a 5 días de trabajo por año.

El tratamiento de SOS también supone un coste económico importante. Normalmente el tratamiento del SOS es paliativo, siendo la principal opción los lubricantes o lágrimas artificiales, aunque también se incluyen otros tratamientos menos económicos como ciclosporina tópica, agentes mucínicos o suplementos orales.^{99, 105}

Clegg et al¹⁰² estudiaron el coste económico del ojo seco en seis países europeos. En el estudio, además del coste del tratamiento del SOS, se incluían los costes derivados de consultas especializadas y gasto de tests diagnósticos, entre otros. Se encontró que el gasto por paciente era desde 273 \$ en Francia, 536 \$ en Alemania, 645 \$ Italia, 765 \$ en España, 415 \$ en Suíza, hasta 1100 \$ en el Reino Unido. Las visitas a los especialistas fueron el principal gasto en Francia, Alemania y España, mientras que el uso de test diagnósticos fue el principal gasto en Italia y Suíza, siendo la prescripción de fármacos el principal gasto en el Reino Unido.

En la misma línea, Mizuno et al,¹⁰⁶ estimaron el coste anual de los pacientes de SOS en 530 \$, lo que incluía los gastos clínicos (165 \$), costes de tratamiento farmacológico (323 \$) y gastos derivados de la inserción de tapones lagrimales (42 \$).

Waduthantri et al¹⁰¹ revisaron los datos de tratamiento de SOS en 54052 pacientes de Singapur durante un periodo de dos años (2008 – 2009) y estudiaron el gasto total de sólo del tratamiento, sin incluir el gasto de las consultas ni del uso de los test diagnósticos. Encontraron que el gasto total del tratamiento de SOS era alrededor de 1,5 millones de \$ por año. Al calcular el gasto por persona y por episodio se encontró que cada paciente gastaba 22.11 \$ y 23.59 \$ en los años 2008 y 2009, respectivamente. El coste de la terapia farmacológica (80,27 \$ – 143,9 \$) resultó ser mayor que el de lubricantes y terapia de DGM (12,68 \$ – 21,82 \$). Sin embargo, estos últimos se prescribían con más frecuencia, lo que aumentaba el coste.

Dado el gasto económico asociado a las consultas especializadas, Waduthantri et al¹⁰¹ proponen que estos costes podrían minimizarse si los pacientes se monitorizaran adecuadamente por los profesionales de atención primaria. Por lo tanto es evidente que el SOS supone una carga económica al paciente y al sistema de salud, por lo que es necesario un examen adecuado de la PL y un correcto diagnóstico del SOS.

3.3 EXAMEN DE LA PELÍCULA LAGRIMAL. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Uno de los aspectos más complejos del estudio de la PL es el diagnóstico del SOS, ya que es muy difícil de realizar de forma fiable, debido principalmente a varios factores. Por un lado el SOS tiene un carácter multifactorial, donde los síntomas y signos pueden tener múltiples causas. Esta enfermedad puede involucrar a la PL, los párpados, las glándulas lagrimales principal y accesorias, las glándulas de meibomio y un amplio espectro de células de la superficie ocular, incluyendo células epiteliales, de globet, inflamatorias, e inmunitarias.³⁷ Por este motivo es muy difícil hablar de un único test que se pueda categorizar como “gold standard” para el diagnóstico de SOS. Por otro lado, las pruebas clínicas objetivas de ojo seco presentan una variabilidad considerable, por lo que no son muy repetibles, derivado principalmente de la inestabilidad provocada por la interacción con la PL durante la observación clínica.

3.3.1 Evaluación de los síntomas.

El SOS es una enfermedad sintomática, por lo que se debe investigar la presencia y grado de los síntomas que presenta el paciente. Esta es una parte fundamental del examen, e incluso muchos profesionales e investigadores basan su diagnóstico únicamente en la evaluación de los síntomas.²¹ Los síntomas pueden variar de acuerdo con el estado de inestabilidad de la PL y el daño de la superficie ocular. Además, no existe una relación clara entre los signos clínicos y los síntomas, lo que complica el diagnóstico.⁷⁰ Se pueden presentar casos de pacientes diagnosticados de SOS que apenas presenten síntomas, mientras que también existen pacientes sintomatológicos que no muestran signos de ojo seco. Un problema que puede surgir es la interpretación subjetiva de los síntomas por el paciente. Para resolver esto, se han diseñado cuestionarios estandarizados, con lo que se pretende facilitar las respuestas del paciente y generar unos resultados más objetivos, mediante una puntuación acorde a sus respuestas. Existen muchos cuestionarios estandarizados de ojo seco, donde cada uno está dirigido a una población más específica, como usuarios de LC. Además, cada cuestionario puede abordar un conjunto de específico síntomas. Cabe señalar el cuestionario de McMonnies,¹⁰⁷ diseñado en 1986 y dirigido a una población clínica. A partir de los años noventa comenzaron a proliferar distintos cuestionarios, como el CANDEES (*Canadian Dry Eye Epidemiology Study*),⁵ el cuestionario Salisbury,¹⁰⁸ o el NEI-VFQ (*National Eye Institute-Visual Function*),¹⁰⁹ entre otros, todos ellos utilizados para estudios epidemiológicos. A partir del año 2000 surgieron más cuestionarios, del que cabe destacar el OSDI (*Ocular Surface Disease Index*),¹¹⁰ que mide el grado de SOS, el cuestionario DEQ (*Dry Eye Questionnaire*)¹¹¹ utilizado para LC, el IDEEL (*Impact of Dry Eye on Everyday Life*),¹¹² para evaluar el impacto del SOS en la vida diaria, o el cuestionario de Bjerrum.

3.3.2 Examen con lámpara de hendidura

Esta es una parte esencial dentro del protocolo de exploración ocular. Consiste en un biomicroscopio (diseñado para observar el polo anterior ocular con gran magnificación) y una LH que pueda cambiar la técnica de iluminación (**Figura 7**). Aunque no es exclusiva de la evaluación de la PL proporciona información sobre la salud de la superficie ocular. Además, el biomicroscopio es esencial durante la realización de varias pruebas de la PL.

En esta parte del examen se realiza la exploración del borde libre palpebral y concretamente, las evaluaciones de las glándulas de meibomio. Éstas se pueden clasificar en cuatro grados;¹¹³ donde el grado 1 indica que no hay ninguna glándula taponada, el grado 2 muestra la presencia de varias glándulas taponadas y la secreción con aspecto

grosso, en el grado 3 se aprecia que la mitad de las glándulas están bloqueadas y en el grado 4 más de la mitad de las glándulas están bloqueadas junto con la presencia de secreciones viscosas.¹¹³



Figura 7. Examen del polo anterior con la lámpara de hendidura.

El examen con la LH es esencial para graduar la tinción de la superficie ocular, que es un signo de daño epitelial. Existen varios tintes vitales, siendo la fluoresceína sódica y el verde lisamina los más utilizados. La fluoresceína sódica es el tinte más indicado para observar el epitelio corneal, mediante la observación con LH junto con los filtros azul cobalto y amarillo,³⁰ con lo que se observa el daño del epitelio corneal como un punteado de color verde (**Figura 8A**), que en casos severos, pueden confluir formando manchas más grandes (**Figura 8B**).

A la hora de instilar la fluoresceína se debe tener precaución, ya que con el exceso de concentración, particularmente en ojos secos, ésta pierde su fluorescencia, con lo que la tinción se ve más oscura o es inapreciable.¹¹⁴

Otro factor que puede afectar al examen es el PH de la lágrima (Un pH < 6 da lugar a la mitad de la fluorescencia que produce un pH neutro), o la presencia de sustancias preservantes, entre otros.³⁰ Cuando se usan tiras de fluoresceína, la solución salina tamponada es la mejor opción, ya que pueden producirse grandes variaciones si se utiliza solución salina no tamponada para disolver la fluoresceína de las tiras.³⁰

El tinte verde lisamina se usa principalmente para observar el epitelio conjuntival, donde no es necesario utilizar ningún filtro para su observación (**Figura 9A**). No tiñe la PL, por lo que cualquier tinción epitelial se aprecia con claridad. Se cree que el verde lisamina tiñe las células epiteliales que no estaban protegidas por proteínas y mucinas,¹¹⁵ aunque otros autores sugieren que tiñe células degeneradas y mucus.¹¹⁶ Finalmente hay que señalar que la tinción del epitelio con verde lisamina se aprecia mejor 2 minutos después de la instilación.¹¹⁷

Debido a la subjetividad asociada a la evaluación de las tinciones córneo-conjuntivales, se han diseñado varios esquemas como el Van Bijsterveld¹¹⁸ o el esquema de Oxford.³⁰ Este último está formado por cinco paneles que representan la tinción mediante un punteado que aumenta con progresión logarítmica entre los paneles.³⁰

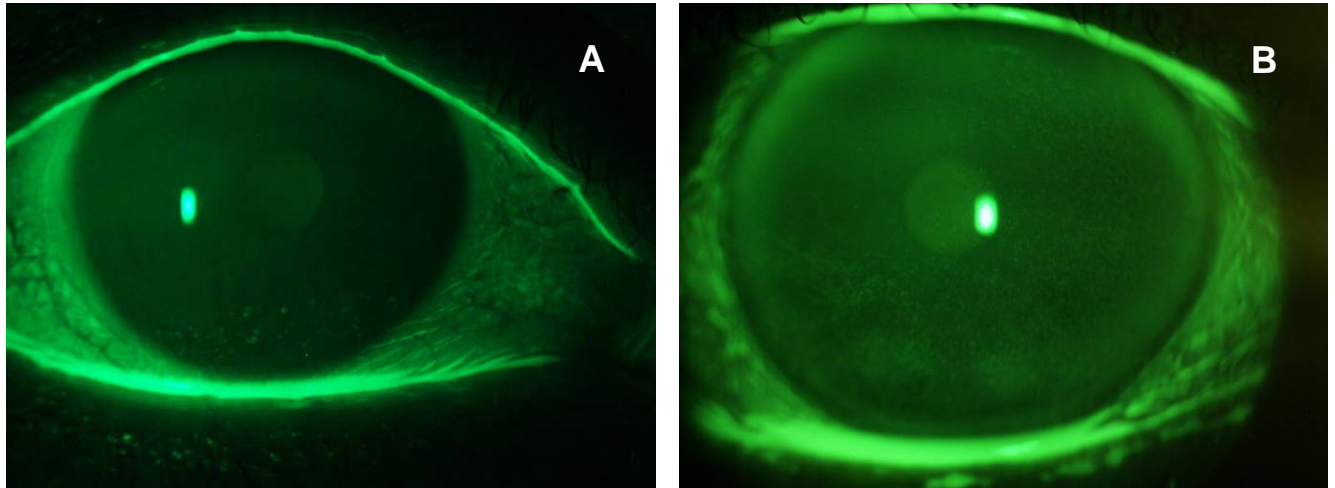


Figura 8. Tinción del epitelio corneal visto con lámpara de hendidura y tinción con fluoresceína. Se observa con filtros azul cobalto y amarillo. A) Punteado leve inferior, B) tinción más generalizada y coalescencia inferior.

Durante la exploración con LH se puede observar un signo muy característico en el diagnóstico de SOS conocido como la epitelopatía en limpiaparabrisas (*Lid wiper epitheliopathy, LWE*) (**Figura 9B**). Korb describió esta limpieza en parabrisas como la porción de la conjuntiva del párpado superior que se “frota” con la superficie ocular durante el parpadeo.¹¹⁹ Si se evierte el párpado superior y se tiñe con verde lisamina, se puede ver la línea de Marx a lo largo del párpado superior.¹²⁰ En los ojos con SOS esta tinción es más severa.¹¹⁹

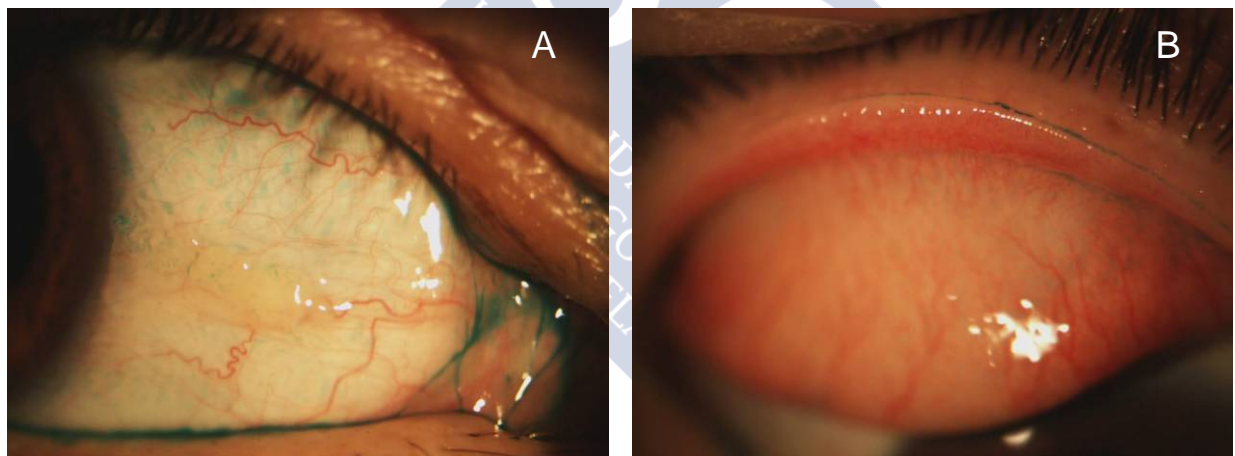


Figura 9. A) Tinción con verde lisamina. B) Epitelopatía en limpiaparabrisas (LWE)

3.3.3 Evaluación objetiva del ojo seco.

Existe, afortunadamente, una amplia serie de pruebas para evaluar los diferentes aspectos de la PL. Estos tests, a su vez, se pueden agrupar en varios grupos dependiendo qué aspectos de la PL evalúan. Principalmente se pueden clasificar en pruebas de secreción de la PL o cuantitativas y pruebas de estabilidad de la PL o cualitativas. Asimismo, existen otras pruebas más propias de laboratorio. A pesar de esta clasificación, hay que recordar que realmente la secreción y estabilidad lagrimal están íntimamente ligadas, donde una disminución de la secreción conduce a una mala estabilidad y viceversa. A continuación se comenta brevemente los tests más comunes

utilizados en la evaluación de la PL, exceptuando aquellos que formaron parte del estudio de esta tesis, ya que se tratarán posteriormente de forma más detallada.

3.3.3.1 Tests de secreción o cuantitativos.

Los tests cuantitativos de la PL están relacionados con la secreción de la glándula lagrimal. Cuando la función lagrimal está defectuosa se aprecian signos como un reducido volumen o flujo lagrimal.

Test de Schirmer. Esta prueba realiza una estimación del volumen lagrimal estimulado de forma refleja por la inserción de un papel de filtro en el saco conjuntival. La tira de papel se sitúa en el tercio externo del párpado inferior, mientras el paciente mantiene los ojos cerrados.¹²¹ Después de 5 minutos, la tira se retira y se mide la longitud humedecida (**Figura 10**). Existe una versión de esta prueba, Schirmer II, para medir la secreción basal, mediante el uso de anestésico, pero no ha sido validado. El valor de corte de SOS de esta prueba está establecido en 5 mm,²¹ y aunque este es un test muy utilizado, sus resultados ofrecen gran variabilidad.²² Además, es muy incómodo para el paciente, tanto por las molestias de la tira de papel, como por el excesivo tiempo (5 minutos) que tarda la prueba. En este sentido, Karampatakis et al,¹²² establecieron que este test se podría utilizar con una duración de 2 minutos, ya que en ese tiempo el 95% de los sujetos presentaban una longitud de medida > 10 mm. Además, este nuevo método era preferido por los pacientes y observadores.



Figura 10. Test de Schirmer. Imagen extraída de http://www.tijuanaeyecare.com/ojo_seco.html

Test de rojo fenol. Esta prueba consiste en un hilo de algodón impregnado de fenolftaleína o rojo fenol, que es sensible a los cambios del PH normal de la lágrima.¹²³ Por lo tanto, cuando el hilo se impregna de la lágrima cambia de color amarillo a rojo (**Figura 11**). El procedimiento consiste en situar el hilo de algodón en el tercio externo del párpado inferior, entre la conjuntiva bulbar y tarsal, durante sólo 15 segundos. Una vez retirado el hilo se mide la cantidad que cambió de color amarillo a rojo, lo que indica la cantidad de lágrima secretada. Se ha establecido que un valor < 10 mm es indicativo de SOS.¹²³ Este test, con respecto al Schirmer, tiene la ventaja de que es menos molesto para el paciente (el hilo es imperceptible) y la duración es mucho menor. Sin embargo, es difícil cuantificar exactamente la longitud del hilo teñido de rojo, ya que el cambio de color no es uniforme. Aunque el principio de esta técnica es similar al Schirmer no se encontró ninguna correlación entre ambos tests,¹²⁵ lo que indica que realmente miden distintos parámetros de la PL.²³ El Schirmer estaría relacionado con la secreción refleja, mientras que el rojo fenol es un índice del volumen.²³

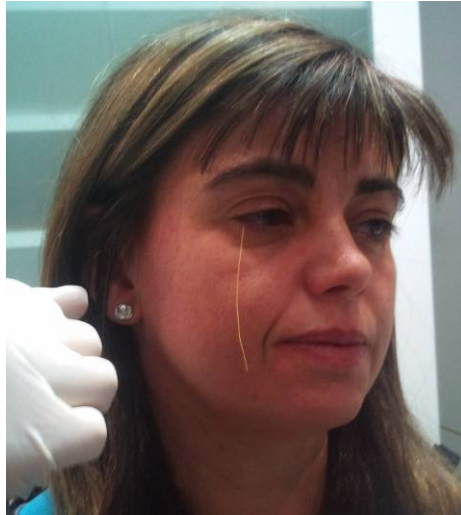


Figura 11. Test de Rojo Fenol.

Test de aclaramiento lagrimal. Esta prueba consiste en instilar en el saco conjuntival 10 μL de fluoresceína sódica al 0,5% y oxibuprocaina (colirio anestésico) al 0,4%. El sujeto permanece durante 5 minutos con los ojos abiertos, parpadeando con normalidad, tras los cuales se coloca una tira del test de Schirmer durante otros 5 minutos con los ojos cerrados. Se mide la longitud de la porción humedecida de la tira y la intensidad del color, y se compara esta con una escala de color estandarizada con diferentes diluciones de fluoresceína.¹²⁶ Cada grado de color indica un 3,6% $\mu\text{l}/\text{min}$ de variación en el porcentaje de eliminación lagrimal y un cambio en el flujo lagrimal de 0,38 $\mu\text{L}/\text{min}$.¹²⁷ Tomlinson et al¹²⁸ encontraron que esta técnica era muy útil para determinar el SOS y sus subtipos, con un valor de corte de > 12.9 ml/min para detectar el SOS. Sin embargo esta técnica no es muy adecuada para la consulta rutinaria, ya que supone un alto coste así como un material más propio de laboratorio.

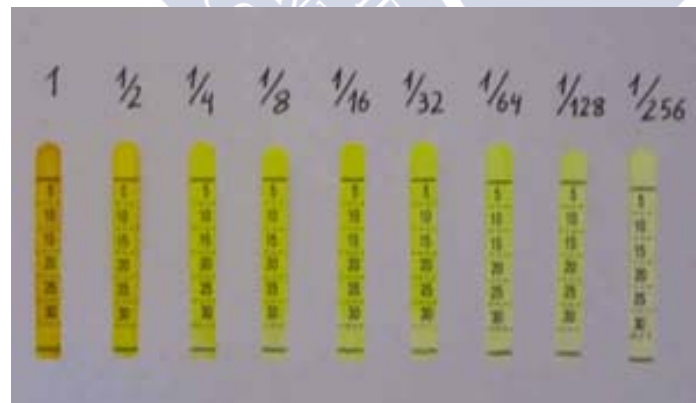


Figura 12. Escala de diluciones de fluoresceína en el test de aclaramiento lagrimal. Imagen extraída de Vico et al.¹²⁹

3.3.3.2 Tests de estabilidad o cualitativos.

Los tests cualitativos están relacionados con la habilidad de la PL para mantenerse estable, lo que es esencial para cubrir el polo anterior ocular y realizar correctamente sus funciones. Cabe citar las siguientes pruebas muy utilizadas en clínica:

Tiempo de ruptura lagrimal (BUT). Esta es la prueba más utilizada para estudiar la estabilidad lagrimal y consiste en medir el tiempo que la PL se mantiene estable entre los parpadeos.²⁶ Para ello se requiere teñir la PL mediante la instilación de fluoresceína

sódica y se observa la PL con un biomicroscopio con un filtro azul cobalto y un filtro amarillo (wratten 12).²¹ Durante esta prueba el paciente, después de realizar un parpadeo completo, mantiene el ojo abierto hasta que aparecen los primeros signos de rotura o sequedad, como manchas oscuras sobre el fondo verde (**Figura 13**). Estas roturas ocurren con más frecuencia en el tercio inferior y central, y con menos frecuencia en el cuadrante superior.²⁵ Se considera que una estabilidad de la PL normal supone un BUT ≥ 10 segundos.¹³⁰ Sin embargo, esta prueba tiene poca reproducibilidad ya que está afectada por varios factores, como la experiencia del observador, técnica de iluminación (normalmente se usan tiras humedecidas), distribución no uniforme de la fluoresceína y la cantidad y tipo de fluoresceína instilado.¹³¹ En este sentido, para mejorar la fiabilidad de esta prueba, se ha recomendado el uso de micropipetas para instilar de 1-5 μl de fluoresceína. Utilizando estas cantidades de fluoresceína se encontró que un BUT < 5 segundos era indicativo de SOS.¹³²

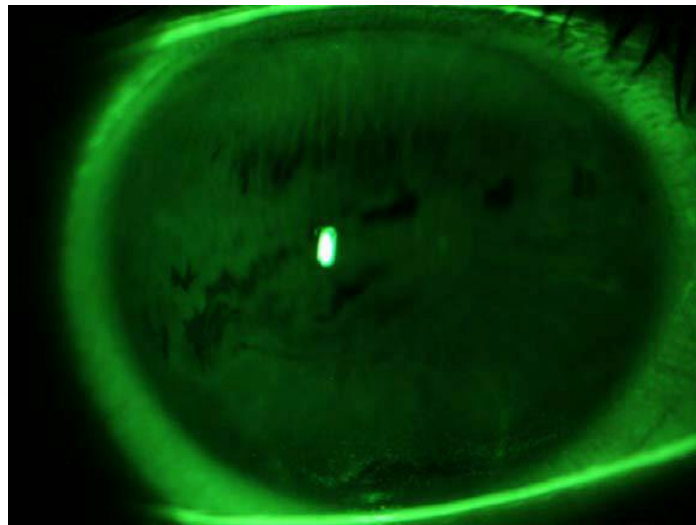


Figura 13. Ruptura de la PL (zonas oscuras) durante el test BUT.

Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (NIBUT). Esta prueba es similar al BUT excepto que no se instila fluoresceína, con lo que se evita la desestabilización de la PL.²⁶ En lugar de eso, para visualizar la lágrima se utiliza una rejilla u otro patrón que se proyecta en la PL precorneal. Una vez enfocada la rejilla (**Figura 14A**), se le pide al paciente que mantenga el ojo abierto sin parpadear hasta que se aprecia la distorsión/ruptura de la rejilla.²⁵ El NIBUT se contabiliza desde el último parpadeo hasta la aparición de la primera distorsión/ruptura. Para ser precisos, se debe diferenciar el tiempo de adelgazamiento lagrimal (*tear thinning time*, TTT) del de ruptura lagrimal (NIBUT propiamente dicho).¹³³ El TTT precede al NIBUT, y refleja el adelgazamiento de la PL que conduce a la ruptura de la PL. Normalmente el TTT se contabiliza hasta la primera distorsión de la rejilla,¹³³ mientras que el NIBUT se considera cuando se observa la ruptura de la mira (**Figura 14B**).²⁵ Cuando se compararon los resultados del BUT con el NIBUT se encontró que los valores de BUT eran significativamente más bajos que el NIBUT, lo que era de esperar dada la distorsión de la PL que provoca la instilación de fluoresceína en el BUT.²⁶ Para realizar el NIBUT se pueden proyectar las miras de un queratómetro, siendo el método más utilizado en clínica.¹³³ Sin embargo esto reducía la observación a una región muy pequeña. Para ello se han diseñado sistemas para ampliar la zona de observación tal como la superficie hemiesférica acoplada a la LH diseñada por Mengher.¹³⁴ Con la irrupción de la topografía corneal, la proyección de los anillos de los videoqueratoscopios también se utilizaron para medir el

NIBUT.¹³⁵ Otro método muy utilizado fue el uso del Tearscope-Plus, el cual incluye rejillas intercambiables para realizar el NIBUT.⁴⁴ Una ventaja del Tearscope-Plus es que permite la realización de la prueba con la LH o de forma portátil.⁴⁴ Recientemente se ha diseñado un topógrafo, el Keratograph (Oculus, Wetzlar, Germany), el cual permite obtener el valor de NIBUT de forma automática con una repetibilidad aceptable.¹³⁶

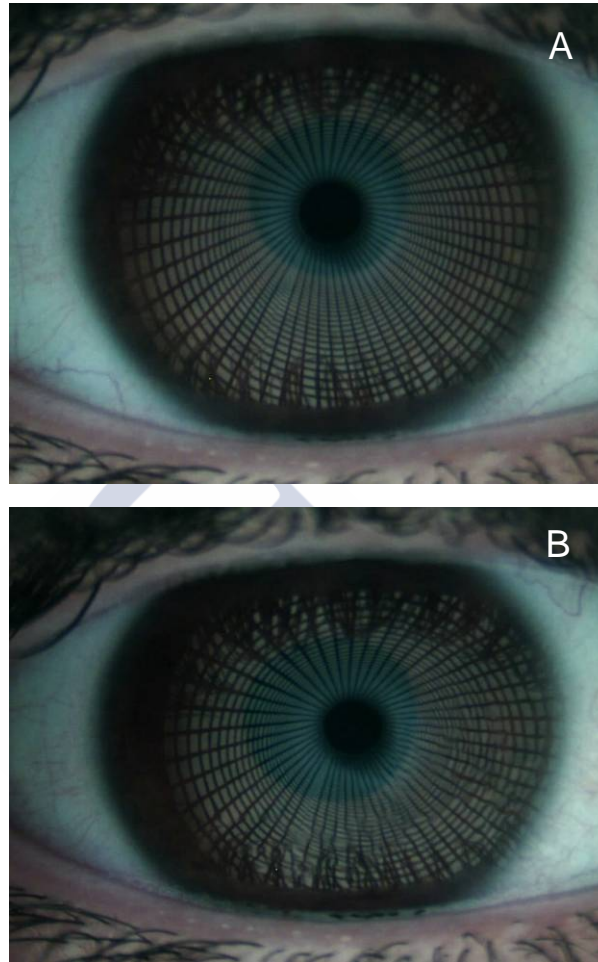


Figura 14. Test NIBUT. A) Aspecto del reflejo de la rejilla (mediante el uso del Tearscope. B) Distorsión de la imagen de la rejilla durante el momento de la ruptura de la PL.

Agudeza visual funcional (AVF). Este test evalúa la AV durante y después de mantener el ojo abierto de forma sostenida, lo que es representativo de la función visual disminuida durante las actividades de la vida diaria.¹³⁷ La AVF se mide después de mantener el ojo abierto durante 10-20 segundos, lo que simula la función visual durante las tareas diarias al suprimir la acción de parpadeo durante la lectura.¹³⁷ Se ha encontrado que los pacientes con SOS mostraban una disminución significativa de la AVF comparada con los controles. Para normalizar este test se ha diseñado un instrumento FVAM, SSC-350, NIDEK) que permite medir la AVF de forma continuada durante un periodo de 30 segundos sin parpadeo.¹³⁸ Este instrumento se utiliza mucho para valorar las distorsiones de la visión en pacientes con SOS y muestra una correlación significativa con los valores de BUT.¹³⁸

3.3.3.3 Pruebas de laboratorio

Estas pruebas están dirigidas a evaluar moléculas específicas durante la respuesta inmunológica del SOS. Dado que este grupo de pruebas no son propias de la consulta

diaria, si no más bien de un laboratorio con un equipamiento específico y con un personal cualificado, no es el objeto de este trabajo profundizar mucho en ellas. Sólo citar algunas como el análisis de la lisozima, lactoferrina o los lípidos en la lágrima. Existen varios sistemas de análisis para medir la lisozima en la lágrima, cuyos valores normales están entre 2 y 4 mg/mL, mostrando unos valores reducidos los pacientes con SS.¹³⁹ La concentración de lactoferrina se puede medir por medio de placas comerciales tal como el test Lactoplate® o por medio de la prueba Lactocard, que es un ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) en fase sólida. Sólo requiere 2 mL de volumen de lágrima y se mide por colorimetría en un espectrómetro de reflectancia.¹³⁹ La prueba dura 15 minutos y los resultados inferiores a 0,90 mg/dl se consideran anormales. Por otro lado, el análisis de lípidos se puede realizar con técnicas basadas en hidrólisis y derivatización, tal como cromatografía de capa fina, espectroscopía de resonancia magnética nuclear, espectroscopía Raman e infrarroja o cromatografía de gases.¹⁴⁰



3.3.4 Examen del patrón lipídico interferencial

La capa lipídica de la película lagrimal juega un papel importante en la limitación de la evaporación durante el período entre parpadeo y también afecta a la estabilidad de la película lagrimal.¹⁵ La calidad y el espesor de la capa lipídica se puede evaluar de forma no invasiva mediante la observación de un fenómeno interferométrico.

La PL es transparente, lo que hace muy difícil realizar una observación directa durante la evaluación clínica. Por ejemplo, para evaluar en el test BUT si la PL está presente, se necesita teñirla con fluoresceína la PL,¹³² mientras que para el test NIBUT se necesita proyectar una rejilla en la superficie corneal.²⁶ Este problema es incluso mayor si se pretende observar de forma directa la estructura de la PL. Sin embargo, mediante el uso de técnicas basadas en principios ópticos sencillos, la estructura de la capa anterior de la PL, la capa lipídica superficial, puede apreciarse in vivo.

3.3.4.1 Reflexión especular

Debido a que el índice de refracción de la capa lipídica es mayor que el de la capa acuosa, existe una interfaz, entre ambas capas, que puede ser visible mediante reflexión especular. La observación de estas reflexiones especulares permiten la evaluación de la estructura de la PL precorneal. Esto normalmente se ha utilizado para evaluar el estatus de la capa lipídica anterior bajo la observación con LH, pero sólo permite la observación de una pequeña área de 1mm×2mm, debido principalmente a que la fuente de luz de la LH subtende un ángulo muy pequeño (**Figura 15**). Para resolver esto, McDonald⁴⁶ introdujo una lámpara hemiesférica para obtener una mayor reflexión de la PL, obteniendo mayores áreas de observación de la capa lipídica superficial. La base de este diseño se utilizó en posteriores instrumentos (**Figura 16**).



Figura 15. Aspecto de la PL con lámpara de hendidura mediante reflexión especular.

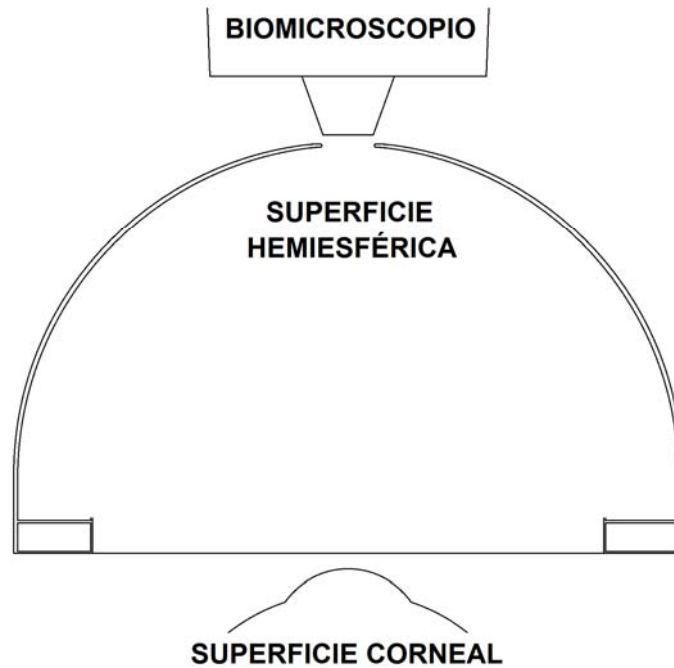


Figura 16. Fuente de luz hemisférica para obtener una mayor reflexión especular.

3.3.4.2 Fenómeno de interferencia: interpretación de las observaciones.

Cuando se observa el aspecto de la capa lipídica con esta técnica, se puede apreciar la presencia de franjas de interferencia que son el resultado de las propiedades ondulatorias de la luz. En este sentido, cuando haces de luz coherentes de una longitud de onda dada se combinan en un foco común éstos interferirán, de forma constructiva o destructiva, dependiendo de si el ángulo entre las fluctuaciones periódicas de sus campos electromagnéticos están en fase o en desfase.¹⁴¹ Para observar el fenómeno de interferencia es necesario utilizar fuentes de luz coherentes, es decir, fuentes de luz cuyas diferencias de fase permanezcan constantes en el tiempo. Una manera fácil de obtener esto es mediante el uso de una única fuente de luz y su imagen óptica.¹⁴¹

En el caso de la PL existen dos haces que interfieren, el haz reflejado desde la interfaz aire-capa lipídica de la PL y el haz reflejado desde la interfaz capa lipídica-capa acuosa de la PL. Ambos haces de luz se originan en la misma fuente de luz, y de echo, son dos imágenes de ella, por lo tanto, los haces cumplen los requisitos de la coherencia. La **Figura 17** muestra un esquema de este fenómeno entre dos fronteras planas, una superficie de separación aire-capa lipídica y una superficie de separación capa lipídica-capa acuosa, que cumplen la siguiente expresión:¹⁴¹

$$m(d, \phi', \lambda) = \frac{2n(\lambda)d \cos(\phi')}{\lambda}$$

Donde m es el orden de interferencia; d es la distancia entre ambas superficies de separación, que es el espesor de la capa lipídica; ϕ' es el ángulo de refracción y siempre se considera normal o casi normal a la superficie corneal; λ es la longitud de onda de la luz; y $n(\lambda)$ es el índice de refracción, que depende de la longitud de onda.

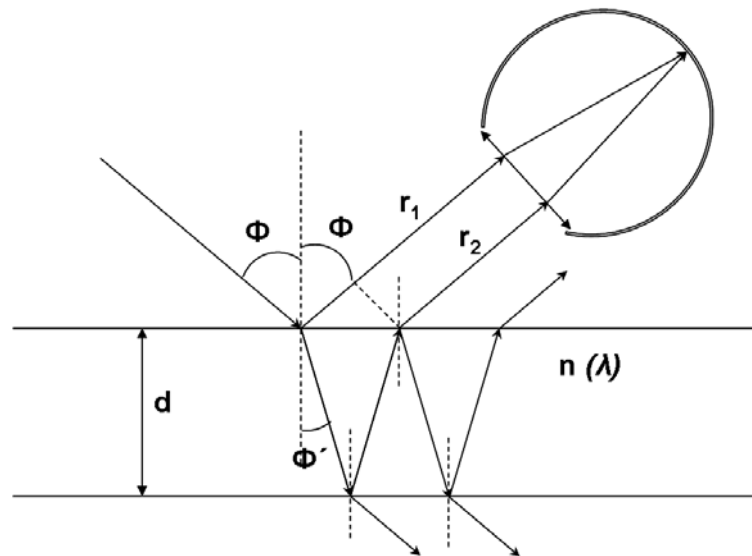


Figura 17. Esquema óptico que del principio de interferencia. Ambos haces de luz r_1 y r_2 se originan de la misma fuente: r_1 es el haz de luz reflejado desde la interfaz el aire-lípido de la PL y r_2 es haz de luz reflejado desde la interfaz lípido-acuosa de la PL. El espesor d genera una diferencia de camino óptico entre ellos y producirá franjas de interferencia después de la recombinación. Φ es el ángulo de incidencia, igual al ángulos reflejado. Φ' indica el ángulo de refracción y $n(\lambda)$ es el índice de refracción.

Este fenómeno interferencial, visible por la reflexión especular, permite al observador apreciar un patrón de interferencia, formado por franjas y/o colores,¹⁴¹ conocido como **patrón lipídico interferencial (PLI)**. La observación de franjas de color están relacionadas con espesor de la capa de lípidos por lo que se puede extrapolar el grosor de la capa lipídica. Sin embargo, el reflejo lipídico no siempre muestra un patrón de color. La observación de un patrón incoloro (color gris) se debe a que el espesor de la capa lipídica está por debajo del mínimo necesario para producir franjas de interferencia. Korb estableció el grosor de la capa lipídica correspondiente a cada color utilizando una fuente de luz hemisférica customizada por el propio autor y un biomicroscopio⁴⁶ (Tabla 1).

Tabla 1. Correspondencia del color del patrón de interferencia con el espesor de la capa lipídica de la PL.

COLOR	ESPESOR DE LA CAPA LIPÍDICA [nm]
Gris a blanco	30-60
Gris / amarillo	75
Amarillo	90
Amarillo / marrón	105
Marrón / amarillo	120
Marrón	135
Marrón/ azul	150
Azul/ marrón	165
Azul	180

Posteriormente, se han diseñado muchos instrumentos para evaluar el PLI basados en el principio óptico expuesto aquí. De todos los instrumentos diseñados caben citar el Tearscope Plus,⁴⁴ cámara DR-1²⁸ y el interferómetro de Duane.¹⁴² De todos ellos el Tearscope es el más adecuado para el uso clínico diario.

3.3.4.3 Tearscope – Plus®

El Tearscope-Plus® (*Keeler, Windsor, UK*), diseñado por Guillon⁴⁴ (**Figura 18**), es el instrumento de elección para la rápida evaluación rápida de grosor de la capa lipídica. Consiste en una fuente de luz hemisférica con un agujero central para permitir la observación.⁴⁴ Proyecta una fuente cilíndrica de luz fría sobre la capa lipídica, permitiendo la observación de esta capa por reflexión especular.

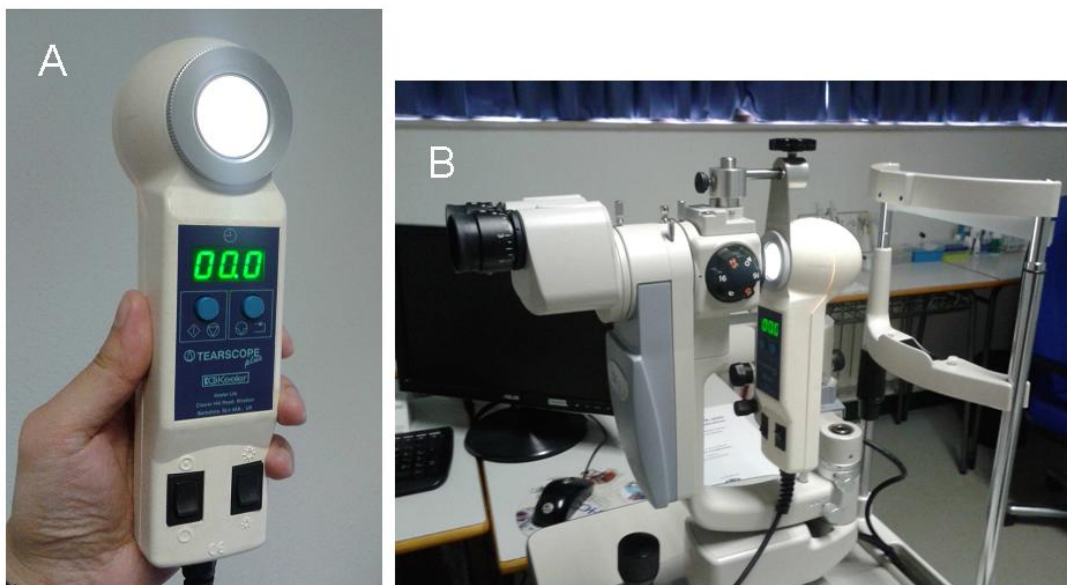


Figura 18. Tearscope-Plus en su versión portátil (A) y acoplado a una lámpara de hendidura (B).

Cuando se observa la PL con este dispositivo existen dos haces que interfieren: el haz reflejado desde la interfaz aire-lípido de la PL y el haz reflejado desde la interfaz capa lipídica - capa acuosa de la PL. Estas dos haces de luz se originan desde la misma fuente de luz (Tearscope) (**Figura 17**).

El Tearscope puede ser utilizado solo o acoplado a un biomicroscopio⁴⁴ (**Figura 18B**). Se recomienda esto último ya que de esta forma proporciona un aumento adecuado de la imagen. La observación del PLI se hace generalmente con aumentos del objetivo de 16X o 40X.

3.3.4.4 Clasificación de los PLIs con el Tearscope.

Guillon propone cinco categorías principales de la capa lipídica basada en la observación de la morfología y color del PLI⁴⁴. Estos patrones son: (**Figura 19**)

Marmóreo abierto (13-50 nm). Representa una capa lipídica muy delgada y poco extendida por la superficie ocular. Su apariencia es de color gris. Este patrón indica que la PL es propensa a la evaporación lagrimal.

Marmóreo cerrado (13-50 nm). Indica una capa lipídica más gruesa que la observada en el MA. El aspecto es gris, con un aspecto de la malla más cerrado y compacto.

Fluido (50-70 nm). Este patrón, de color grisáceo, tiene un aspecto ondulado. Representa una PL con una estabilidad adecuada.

Amorfo (80-90 nm). Patrón indicativo de una capa lipídica homogénea y bien extendida sobre la superficie ocular. Presenta un color blanco amarillento, que puede mostrar colores durante el parpadeo. Patrón ideal para la adaptación de lentes de contacto.

Coloreado (marrón 90-140 nm, azul 180 nm). Capa lipídica más gruesa con mezcla de franjas de colores marrón y azul y se extendida a lo largo de la superficie.

Buen candidato a usar LC debe de tener un espesor entre 90-150 nm que corresponde con patrones de interferencia amarillo (90 nm), amarillo/marrón (105 nm), marrón/amarillo (120 nm), marrón (135 nm) y marrón/azul (150 nm). Puede haber una posible tendencia a la formación de depósitos lipídicos.⁴⁸

Aunque este método supone una técnica útil para evaluar la calidad y la estructura de la PL, está afectada por la interpretación subjetiva del observador. Los patrones más gruesos (≥ 90 nm) son más fáciles de apreciar debido a que producen colores y patrones ondulados. Sin embargo, los patrones indicativos de capas lipídicas delgadas (≤ 60 nm) son difíciles de visualizar, debido a que las franjas de colores y otros rasgos morfológicos no están presentes, por lo que las observaciones están afectadas por la interpretación subjetiva del observador,⁴⁶ por lo que requiere aprendizaje.¹⁴³

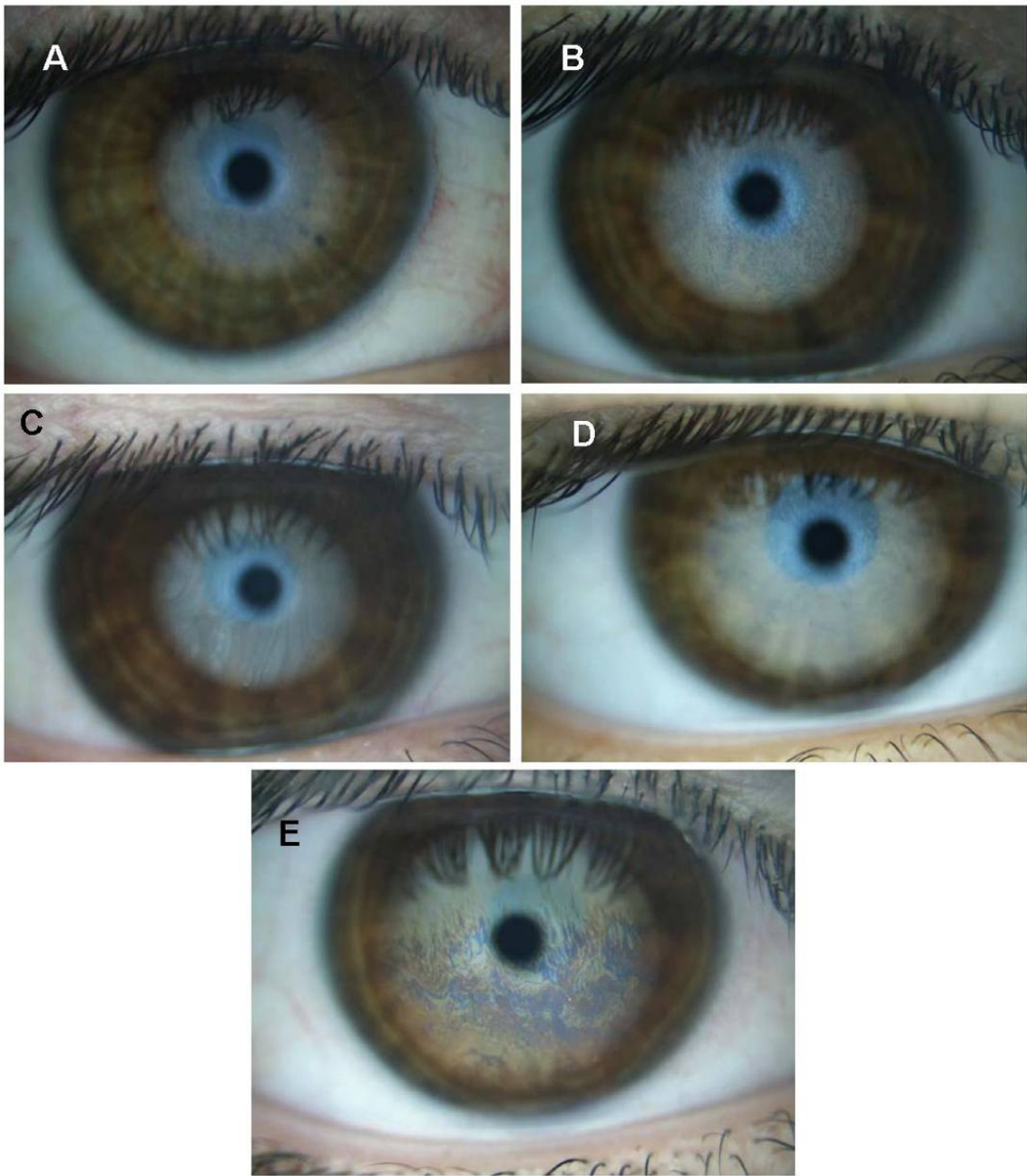


Figura 19. Aspecto de los patrones de interferencia observados con el Tearscope Plus. (A) Marmóreo abierto. (B) Marmóreo cerrado. (C) Fluido. (D) Amorfo. (E) Coloreado.

3.3.5 Osmolaridad de la película lagrimal.

Como se ha comentado anteriormente, la osmolaridad elevada de la PL, o hiperosmolaridad lagrimal, es uno de los factores desencadenantes del SOS y que siempre está presente en todos los tipos de SOS, por lo que su estudio cobra de vital importancia.

La PL mantiene un equilibrio dinámico mediante un ciclo continuo de producción, evaporación, absorción y drenaje, lo que conduce a la osmolaridad de la PL adecuada. Un desequilibrio homeostático causa la alteración de la estructura y composición de la PL ocasionando, en última instancia, la hiperosmolaridad e inestabilidad de la PL.¹⁴⁴

La osmolaridad de la PL está determinada principalmente por los electrolitos de la fase acuosa de la PL, donde los que más contribuyen son los cationes sodio y potasio y los aniones cloruro y bicarbonato. Por otra parte, las proteínas y los azúcares son los que menos aportan, siendo menos del 1% de la osmolaridad total de la PL.¹⁴⁴

La causa principal de la hiperosmolaridad de la PL es un desequilibrio ocasionado por una reducción de la producción lagrimal y/o aumento de la evaporación lagrimal. Como consecuencia, la concentración de solutos aumenta provocando el aumento de la osmolaridad, lo que provoca una cascada inflamatoria, siendo la principal causa de molestias, daños en la superficie ocular y la inflamación en el SOS.¹⁴

3.3.5.1 Técnicas para medir la osmolaridad

Dada la importancia de la osmolaridad en la PL, es necesario disponer de la tecnología adecuada para poder determinarla con fiabilidad. Los instrumentos para medir la osmolaridad de los fluidos son conocidos como osmómetros, y según el principio de medición se pueden agrupar en tres tipos; 1) medición del descenso crioscópico o de descenso del punto de congelación, 2) medición de presión de vapor y 3) medición de impedancia eléctrica.

El estudio de la osmolaridad en la PL tiene una dificultad añadida derivada de la recolección de la muestra. Debido al poco volumen de la PL, el osmómetro debe poder operar con un volumen muy pequeño, además durante el proceso de recolección de la muestra de lágrima (normalmente desde el menisco lagrimal inferior) se debe ser cauteloso con el fin de no estimular la secreción refleja.

Hay que señalar que algunos osmómetros están diseñados para medir la *osmolaridad* y otros la *osmolalidad*.

La *osmolaridad* es una medida de la concentración de solutos *osmóticamente activos* en un litro de disolución. El término *osmóticamente activos* se refiere a todos los componentes (tanto moléculas como iones) que no atraviesan la membrana celular y que por ello son responsables de la presión osmótica (tono) de las células. Por lo tanto, este término contempla la disociación de las moléculas, tal como sucede en el caso de electrólitos, en donde el número total de partículas en disolución es mayor que el de moléculas existentes, debido a su disociación. Se expresa como *mOsmol/L*.

La *osmolalidad* también es una medida de la concentración de solutos osmóticamente activos, pero en este caso referidos a un *kg* de disolvente (agua) y se expresa en *mOsmol/kg*. Al contrario que la *osmolaridad*, la *osmolalidad* no depende de la temperatura.¹⁴⁴

Hay que señalar que en una solución estándar el volumen de las partículas del soluto creará una diferencia entre *osmolaridad* y *osmolalidad*, resultando en un aumento de la *osmolalidad* con respecto a la *osmolaridad*. Sin embargo, dado que en la PL el contenido proteico es casi nulo, siendo mayoritariamente agua, la diferencia entre

osmolaridad y *osmolalidad* es menor de un 1-5%, por lo tanto ambos términos son similares y se pueden utilizar de forma intercambiada.^{144, 145}

3.3.5.1.1 Medición del descenso crioscópico o de descenso del punto de congelación.

Los osmómetros de descenso crioscópico determinan la osmolaridad de la lágrima midiendo su punto de congelación en relación con el del agua. La diferencia entre ambos se relaciona con la osmolaridad. Esta técnica se basa en que el punto de congelación del agua (0°) disminuye al añadirle un soluto. Por lo tanto, cuanto menor sea el punto de congelación de una solución, mayor será su osmolaridad.

Esta técnica está considerada como gold standard para determinar la osmolaridad y se ha utilizado en muchas ocasiones para determinar la osmolaridad de la PL.

Cabe citar el osmómetro Clifton (*Clifton Technical Physics, Hartford, NY*) que requiere de una muestra de 0,2 µl para realizar una medida (**Figura 20**). Sin embargo, este método requiere mucha experiencia, consume mucho tiempo y está predispuesto a errores debido a la evaporación de las muestras. Además el método de recolección de lágrima se realiza mediante microcánulas en el menisco lagrimal inferior, con lo que dificulta la técnica.¹⁴⁶ Este osmómetro actualmente está descatalogado.



Figura 20. Osmómetro Clifton

El Advanced tear 3100 osmometer (*Advanced Instruments, Inc, Norwood, MA*)¹⁴⁷ fue un osmómetro diseñado exclusivamente para ser utilizado en el estudio de la PL. Este instrumento requería una muestra de 200 nl, que debían ser recogidos del menisco lagrimal por medio de una cánula. Una vez depositada la muestra se necesitaban entre 9 y 13 minutos para obtener la medida. El osmómetro incluía un ordenador portátil, con un software específico del instrumento, que mostraba los resultados y se podía observar una imagen de la muestra de lágrima (**Figura 21**). Aunque se encontró que este osmómetro mostraba una repetibilidad aceptable,¹⁴⁷ tenía el inconveniente de la dificultad del procedimiento y el tiempo necesario para obtener cada medida, demasiado largo para su uso en clínica. Actualmente este osmómetro no está disponible.

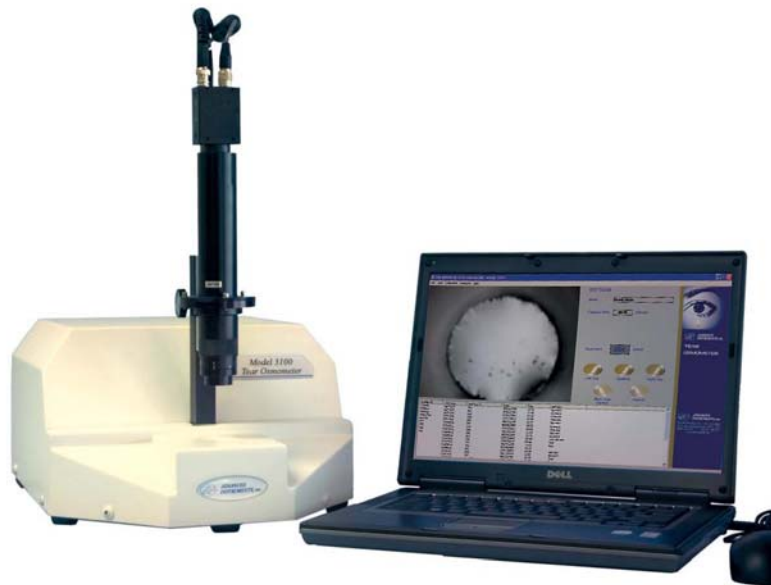


Figura 21. Osmómetro Advanced Tear 3100

3.3.5.1.2 Medición de presión de vapor.

Los osmómetros de presión de vapor miden el descenso de la presión de vapor que experimenta una disolución respecto al disolvente (a la misma temperatura), determinándose su osmolaridad a partir de esta medida, ya que cuantas más partículas se presenten en la solución, más tiempo tarda en evaporarse.

El procedimiento de esta técnica consiste en depositar la muestra de lágrima en un disco de papel de acetato de celulosa, el cual se deposita en una cámara cerrada. Posteriormente la muestra se evapora mientras un sensor mide la temperatura del punto de rocío (temperatura a la que empieza a condensarse el vapor de agua contenido en el aire) dentro de la cámara. La diferencia entre la temperatura del punto de rocío y la temperatura basal proporciona la presión de vapor de la solución, con lo que se obtiene la osmolaridad.¹⁴⁴

Las medidas obtenidas con este tipo de osmómetros resultan menos repetibles que las obtenidas con la técnica del descenso crioscópico.¹⁴⁴ Además, esta técnica tiene el inconveniente de que necesita una muestra de 2 μ l, relativamente grande para la PL, lo que dificulta todavía más la recogida de muestra.¹⁴⁸

Como ejemplo de osmómetro de presión de vapor se puede citar el Wescor 5520 Vapor Pressure Osmometer (*Wescor, Inc.*) (**Figura 22**).¹⁴⁸

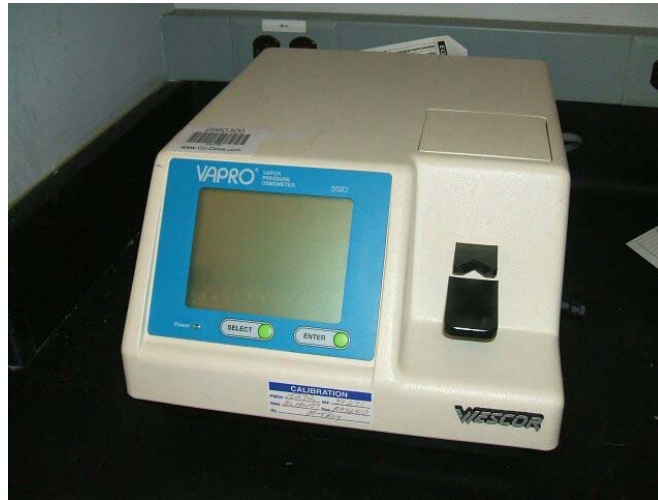


Figura 22. Osmómetro de presión de vapor Wescor 5520

3.3.5.1.3 Medida de la impedancia eléctrica.

Existe en la actualidad una nueva tecnología para el estudio clínico del ojo seco mediante la determinación de la conductividad eléctrica de la lágrima. Este es el caso del osmómetro TearLab™ (TearLab™ Corporation).

Este instrumento consta de dos partes, una sonda, en forma de lápiz (Figura 23A), en el que se inserta una tarjeta desechable que contiene un microprocesador con el que se captura la muestra de lagrime (Figura 23B) y una unidad de medición el cual proporcionará la medida de osmolaridad una vez que se conecte el lápiz por conexión USB (Figura 23C).

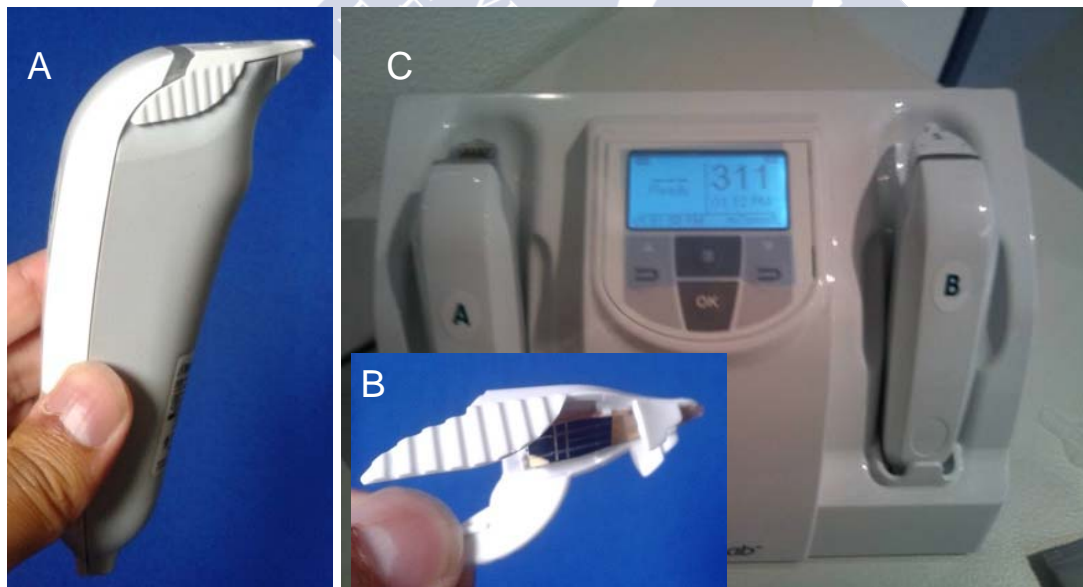


Figura 23. Osmómetro de impedancia eléctrica TearLab. A) Sonda en forma de lápiz. B) Tarjeta o sonda de medición desechable que se inserta en la parte superior del lápiz. C) Unidad de medición.

El procedimiento de recogida de lágrima es muy sencillo, ya que sólo es necesario acercar el lápiz con la tarjeta desechable al menisco lagrimal inferior hasta la recolección por capilaridad de 0.05 µl de lágrima.

La muestra de lágrima recogida en la tarjeta se encuentra situada entre electrodos de oro sometidos a una diferencia de potencial, que es creada por una corriente alterna de elevada frecuencia. De este modo se origina un campo eléctrico en el que los iones procedentes de los electrólitos de la lágrima se desplazan hacia los electrodos, siendo ésta la forma en la que se transporta la corriente eléctrica. Midiendo la resistencia, o impedancia, al paso de esta corriente se puede conocer el valor de la osmolaridad lagrimal.

La principal ventaja de este instrumento es la facilidad de uso ya que la muestra de lágrima necesaria para obtener una medida es muy escasa. Además el proceso de recolección es muy rápido y apenas perceptible por el paciente, con lo que apenas altera la PL. Con estas facilidades, el TearLab ofrece la posibilidad de integrar la medida de la osmolaridad en la práctica clínica diaria.

3.3.5.2 Estudio de la osmolaridad en el diagnóstico de SOS.

Como se ha comentado anteriormente, el diagnóstico del SOS es muy complicado debido a su carácter multifactorial y a que no existe una correlación clara entre los síntomas y los signos.

El echo de que la hiperosmolaridad está siempre presente en el SOS hizo pensar a los investigadores que el estudio de la osmolaridad podría ser un test diagnóstico útil. En este sentido, Farris,¹⁴⁹ basándose en los resultados de Gilbard et al¹⁵⁰ y Lucca et al,¹⁵¹ propusieron la medida de la osmolaridad de la PL como el nuevo “*gold standard*” en el diagnóstico del SOS. Sin embargo, otros autores criticaron esta idea apoyándose en el echo de que la gran variabilidad en la severidad SOS, su naturaleza multifactorial y numerosas manifestaciones, harían poco probable que un solo resultado de un test tuviera una sensibilidad adecuada para el diagnóstico de SOS.¹⁵² A pesar de estas discrepancias, la idea de la osmolaridad como “*gold standard*” en el SOS está muy extendida.²¹

Otra cuestión importante es que todos los osmómetros miden la osmolaridad de las lágrimas recogidas en el menisco lagrimal inferior, lo que podría infraestimar los resultados, ya que la osmolaridad en la superficie ocular es mayor que en el menisco lagrimal.¹⁵³

Se han sugerido varios criterios de corte para el diagnóstico de SOS, aunque esto depende de la técnica de medición de osmolaridad utilizada. Hay que señalar que la gran mayoría de los estudios se han realizado con la técnica del descenso crioscópico.

Gilbard et al,¹⁵⁰ mediante el descenso crioscópico, establecieron un valor de corte de 312 mOsmol/L con una sensibilidad y especificidad del 94,7 % y del 93,7%, respectivamente.¹⁵⁰ Posteriormente, Khanal et al,¹⁵⁴ también con la técnica del descenso crioscópico, establecieron un valor de corte más elevado, 317 mOsmol/L. Un valor de corte similar (316 mOsmol/L) fue el propuesto por Tomlinson et al,⁶⁸ después de realizar un meta-análisis que incluía resultados basados en tecnología de descenso crioscópico y de presión de vapor.⁶⁸ Este mismo valor de corte es el que propone el DEWS.²¹ Craig et al³ proponen una división según la gravedad de SOS, de esta forma establecen que los sujetos sanos tendrían una osmolaridad < 312 mOsmol/L, los sujetos con SOS marginal presentarían un valor entre 312 y 323 mOsmol/L, y los sujetos con SOS severo obtendrían un valor de osmolaridad > 232 mOsmol/L.³ Por otro lado, Szalay et al,³⁶ mediante la técnica de impedancia eléctrica (osmómetro TearLab) encontraron que el valor de corte para el diagnóstico de SOS era 308 mOsmol/L.

Se debe puntualizar que a pesar del potencial en el diagnóstico del SOS, la medida de la osmolaridad de la PL no era asequible para uso en la clínica diaria y se realizaba exclusivamente en investigación. Con la llegada del osmómetro TearLab basado en la medida de la impedancia eléctrica, se ofrece una técnica que puede ser más adecuada para el uso en clínica, aunque todavía no está del todo asequible.

3.3.6 Otras pruebas para la evaluación de la película lagrimal estudiadas en esta tesis.

3.3.6.1 Cuestionarios estandarizados de síntomas

La evaluación los síntomas del paciente es clave en el diagnóstico de SOS, aunque tiene la dificultad de la subjetividad del paciente en la descripción de sus síntomas. Por ello, los cuestionarios estandarizados de síntomas ofrecen consistencia en la información de la sintomatología recabada por el paciente. Consisten en una serie de cuestiones cuyas respuestas tienen un valor numérico, lo que permite cuantificar con una puntuación los síntomas del paciente.

De todos los cuestionarios disponibles los más utilizados son el cuestionario de ojo seco McMonnies,¹⁰⁷ y el OSDI (*Ocular Surface Disease Index*), que fueron los que se han utilizado en esta tesis.

3.3.6.1.1 Cuestionario de McMonnies

Este fue el primer cuestionario estandarizado para el diagnóstico de SOS.¹⁰⁷ Es un test de screening que utiliza respuestas dicotómicas del tipo si/no y considera factores de riesgo epidemiológicos, frecuencia de síntomas y sensibilidad a los factores medioambientales.

Consta de 12 cuestiones repartidas en 6 áreas que afectan a la superficie ocular.¹⁰⁷ En la primera área (datos de afiliación) se trata la edad, el sexo del paciente y si es usuario de LC. El test agrupa la edad en 3 grupos (< 25 años, de 25 a 45 años y > 45 años) con el fin permitir la comparación entre los grupos de edad mayores, que se dividen en edad según la menopausia. El grupo más joven proporciona la oportunidad de detectar tendencias en cambios relacionados con la edad. Con respecto a las LC, es claramente apropiada la idea de distinguir a los usuarios de LC y no usuarios de LC. En la segunda área (cuestión 2 del test) se trata de averiguar si el paciente ha sido diagnosticado previamente de SOS, ya que un historial de diagnóstico previo puede ser una contribución valiosa al diagnóstico y manejo. La tercera área del test (cuestión 1) se centra en la sintomatología del paciente, concretamente en cinco síntomas (picor, sequedad, sensación de arenilla, quemazón y molestia o dolor) y la frecuencia de los mismos. La cuarta área (cuestiones 6, 7 y 9) está enfocada en la influencia medioambiental y en ciertas situaciones adversas que pueden agravar los síntomas, como fumar, el aire acondicionado, la calefacción, nadar en piscinas y la ingesta de alcohol. La quinta área del test (cuestión 8) responde al uso de medicamentos que puedan agravar el SOS (antihistamínicos, diuréticos, tranquilizantes, pastillas para dormir, anticonceptivos orales, tensión sanguínea, o medicación para problemas intestinales). La sexta y última área del cuestionario se centra en condiciones o enfermedades sistémicas y oculares que puedan estar relacionadas con el SOS, como el SS (cuestiones 3 y 5), problemas de la tiroides (cuestión 4), lagofthalmos nocturno (cuestión 10) y erosión corneal recidivante (cuestión 11).¹⁰⁷

Según las respuestas del paciente se dará una puntuación que será más alta cuanto más grave sea la condición. Una vez obtenida la puntuación se puede realizar un

diagnóstico del paciente en; sujeto sano (puntuación de 0-9), ojo seco marginal (10-20) y ojo seco (> 20).⁴⁶ También se ha sugerido el valor de corte de 14,5 puntos para diferenciar sujetos normales de sujetos con SOS.^{155, 156}

3.3.6.1.2 Ocular Surface Disease Index (OSDI)

El cuestionario OSDI (Allergan, Inc, Irvine, California)¹¹⁰ fue diseñado para proporcionar una evaluación rápida del rango de síntomas de la superficie ocular relacionados con el SOS, su severidad y su influencia en las habilidades y tareas de la vida diaria del paciente. Este cuestionario consta de 12 preguntas divididas en tres dominios; síntomas oculares, funciones relacionadas con la visión, y desencadenantes medioambientales.

La sección de síntomas oculares comprende cinco cuestiones que incluyen los síntomas de visión borrosa o distorsionada, dolor ocular, sensación de arenilla y sensibilidad a la luz. La parte relacionada con las funciones relacionadas con la visión consta de cuatro preguntas sobre actividades como leer, conducción nocturna, uso del ordenador y ver la televisión. El OSDI finaliza con la sección medioambiental que está formada por tres preguntas sobre las condiciones de viento, sequedad ambiental o baja humedad y la influencia del aire acondicionado en la sintomatología del paciente.

El paciente debe responder a todas las cuestiones según la frecuencia que estos síntomas, tareas o factores medioambientales le afectan en su vida diaria en un rango discreto de 0 (nunca), 1 (algunas veces), 2 (la mitad del tiempo), 3 (la mayor parte del tiempo) a 4 (todo el tiempo). Se puede decir que la puntuación 2 indicaría el 50% de severidad, donde los valores 1 y 2 representarían una severidad menor y mayor del 50%, respectivamente. Finalmente, los valores 0 y 4 reflejarían las respuestas más extremas. Un rasgo importante de este test es que todas las respuestas del paciente deben referirse a las sensaciones que percibió únicamente en la última semana. Es decir, en un contexto reciente.

Una vez obtenida la puntuación OSDI del paciente, éste se puede clasificar en cuatro grupos de gravedad;⁶¹ superficie ocular normal (0-12 puntos), y enfermedad de la superficie ocular leve (13-22 puntos), moderada (23-32 puntos) y severa (33-44 puntos).⁶¹ En este sentido, muchos autores han establecido el valor de ≥ 13 como valor de corte para presentar SOS.^{21, 104, 110}

Como principales limitaciones del cuestionario OSDI, se puede señalar que existen variaciones en la dificultad entre las categorías de las cuestiones, no hay relación lineal entre los resultados de la severidad de los síntomas, y la puntuación final puede resultar erróneamente alta cuando el paciente no responde a las cuestiones más difíciles o las considera como no aplicable.¹⁵⁷

Por otro lado, este cuestionario es más repetible que el McMonnies^{110, 158} y ha sido aceptado por la FDA para uso en ensayos clínicos,¹¹⁰ siendo en ocasiones el único test utilizado para diferenciar sujetos normales de los que tenían SOS.¹⁵⁹ Asimismo, este cuestionario puede ser utilizado para evaluar la eficacia del tratamiento en pacientes con SOS y también se ha recomendado para monitorizar la progresión de la DGM.⁶¹

3.3.6.2 Meibometría

La disfunción de las glándulas de meibomio (DGM) es la causa más común del OSE y puede también estar relacionado con el OSDL.^{16, 21, 126, 160-162} Está bien establecido que la DGM es clave en la etiología del SOS, ya que afecta a la secreción de la capa lipídica, esencial en la estabilidad de la PL. Por lo tanto, además del estudio de la capa lipídica, también es importante la evaluación de las glándulas de meibomio.

La mayoría de los observadores clínicos evalúan los párpados de forma subjetiva, graduando la secreción y aspecto de las glándulas de meibomio siguiendo un esquema de gravedad del ojo seco, incluyendo terminología desde “*DGM presente de forma variable*” a “*frecuente*”, para alcanzar el nivel más severo como “*triquiasis, queratinización, simbléfaron*”.^{16, 163-166}

Se han propuesto varios métodos para evaluar los párpados y las glándulas de meibomio, tal como la evaluación de la expresión de las glándulas de meibomio,^{126, 167} meiboscopia,¹²⁶ meibografía^{168, 169} o microscopía confocal.¹⁶⁴ Sin embargo, estas técnicas requieren de la valoración subjetiva del observador o de un equipamiento muy sofisticado.

El meibómetro MB550 (*Courage-Khazaka electronic GmbH, 50829*) es un instrumento diseñado para evaluar la secreción de los lípidos secretados por las glándulas de meibomio de forma rápida y objetiva y consiste en dos partes, una unidad fotométrica (**Figura 24A**) y una cinta de plástico desechable con una superficie brillante y otra mate guardada en un cassette (**Figura 24B**).



Figura 24. Meibómetro MB550. A) Unidad de medición que el la parte superior tiene la unidad fotométrica. B) Cassette que contiene la cinta de medición.

La unidad de medición fotométrica consiste en un emisor y un receptor de luz que se encuentran situados uno en frente del otro en la cabeza de medición. Para obtener la muestra de lípido meibomiano se utiliza la cinta de plástico debidamente preparada y se pone en contacto, por su lado mate, con el tercio central del párpado inferior del paciente. Posteriormente, se mide la transparencia de la cinta con la unidad fotométrica situada en la cabeza de medición del meibómetro, con lo que se obtiene un índice de la cantidad de lípido denominado “*the casual level*” (*lectura casual*).¹⁷⁰ Cuanto más alto es el contenido de lípido, mayor es la transparencia de la cinta. Este instrumento debe estar vinculado a un ordenador con el que opera mediante un software. Para obtener los valores de “*the casual level*” se debe insertar la cinta en la cabeza del meibómetro y moverla de forma manual para que la unidad de medición fotométrica lea todo el espesor de la cinta. Con ello, el software ofrece los valores de “*the casual level*” así como la curva característica (**Figura 25**). Los fabricantes recomiendan tomar los valores “centrales” de la curva característica.

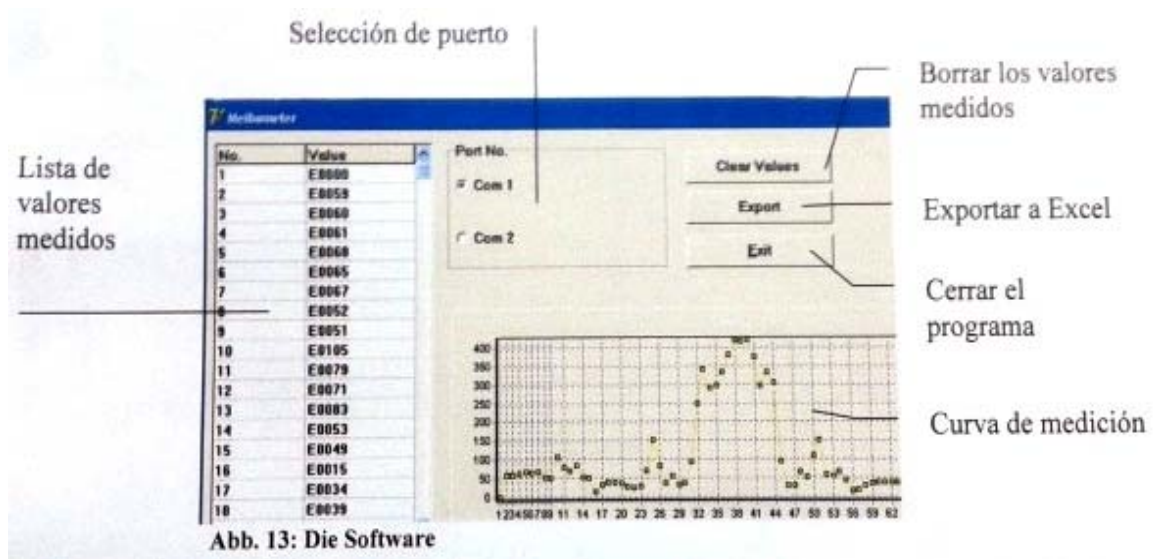


Figura 25. Lista de valores de “casual level” y curva característica ofrecida por el software del meibómetro.

Se ha encontrado en varios estudios que el nivel de lípido meibomiano “*the casual level*” del borde palpebral inferior aumenta con la edad y es mayor a primera hora de la mañana, aunque se mantiene estable a lo largo de todo el día.^{42, 171} También se ha verificado que el “*the casual level*” lipídico obtenido en los pacientes con DGM obstructiva era menor que el obtenido en los sujetos con SOS con deficiencia acuosa y en los sujetos sanos.^{172, 173} Asimismo, los pacientes con DGM hipersecretora (seborrea meibomiana) muestran un “*the casual level*” mayor que los sujetos normales o pacientes con DGM obstructiva.¹⁷²

Una limitación del meibómetro es que en los sujetos normales la muestra de lípido es uniforme, por lo que se puede extrapolar a todo el borde palpebral. Sin embargo, en casos de DGM obstructiva, la obstrucción de las glándulas pueden variar a lo largo de todo el borde libre, por lo que las lecturas centrales no reflejarían realmente el comportamiento de todo el párpado.¹⁷⁴ Por otro lado, aunque esta es una técnica objetiva, existe una pequeña carga subjetiva a la hora de obtener las medidas, ya que el procedimiento para obtener las curvas características de “*the casual level*” depende de la velocidad con la que el observador gire la cinta en la cabeza de medición, por lo que se requiere entrenamiento para girar la cinta a una velocidad constante. También hay que señalar que esta técnica no está del todo estandarizada, ya que no hay consenso entre distintos autores de cuántos valores de la curva característica hay que tomar, ni cuántas curvas hay que trazar.^{172, 173, 175} Asimismo, tampoco existe consenso en el valor de corte para el diagnóstico.²¹

3.3.6.3 Altura del menisco lagrimal.

La PL forma el menisco lagrimal a lo largo de los párpados superior e inferior, entre el párpado y la conjuntiva bulbar. Se ha estimado que el menisco lagrimal equivale al 75-90% del volumen total de la PL,¹ por lo que puede ser un indicador útil y clínicamente relevante del volumen lagrimal. Por lo tanto, la simple observación del menisco ofrece una información útil sin los inconvenientes de otras técnicas invasivas.

La evaluación del menisco lagrimal ha sido objeto de estudio por muchos investigadores donde se han utilizado diversos procedimientos. Se han desarrollado varios parámetros para su estudio, algunos utilizados más frecuente que otros. Cabe citar la **altura del menisco lagrimal (Tear Meniscus Height; TMH) (Figura 26)**,^{23, 39, 176-179} el **radio de curvatura del menisco lagrimal (Tear meniscus radius of curvature; TMC) (Figura 27)**,^{24, 180, 181} el **área del menisco lagrimal (Tear meniscus cross-sectional area; XSA) (Figura 28)**^{24, 180, 182} y la **anchura del menisco lagrimal (Tear meniscus width; TMW) (Figura 29)**.^{24, 180, 182} De estos parámetros, los más utilizados son la TMH y el TMC, aunque el parámetro sin duda más utilizado y el único que se mide de forma rutinaria en la clínica diaria es la TMH.

Se debe señalar que aunque el menisco lagrimal se forma en la parte superior (menisco lagrimal superior) y en la parte inferior (menisco lagrimal inferior), normalmente sólo se determina este último, ya que la evaluación del menisco superior es técnicamente difícil, principalmente por la mayor movilidad del párpado superior y el bloqueo de las pestañas para su visualización.¹⁸³ Además, la evaluación de ambos meniscos no es necesaria ya que cualquier asimetría en las fuerzas gravitatorias es mínima.^{178, 183}

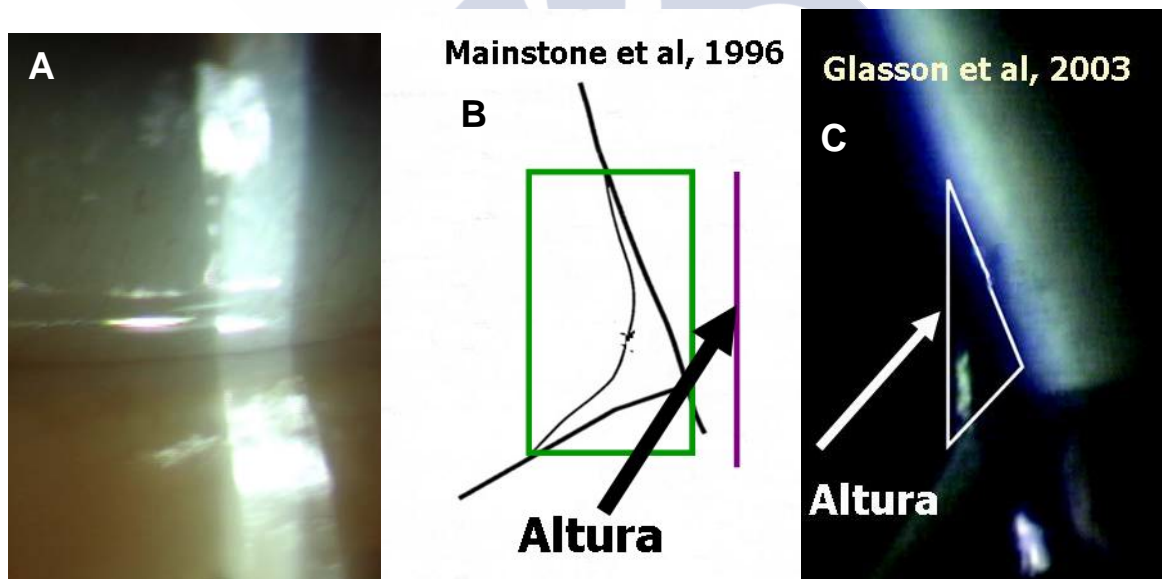


Figura 26. Altura del menisco lagrimal (TMH). A) TMH visto de frente o a las seis horas. B) TMH visto de perfil o tangencial por Mainstone et al.²⁴ C) TMH visto de perfil por Glasson et al.¹⁵⁵

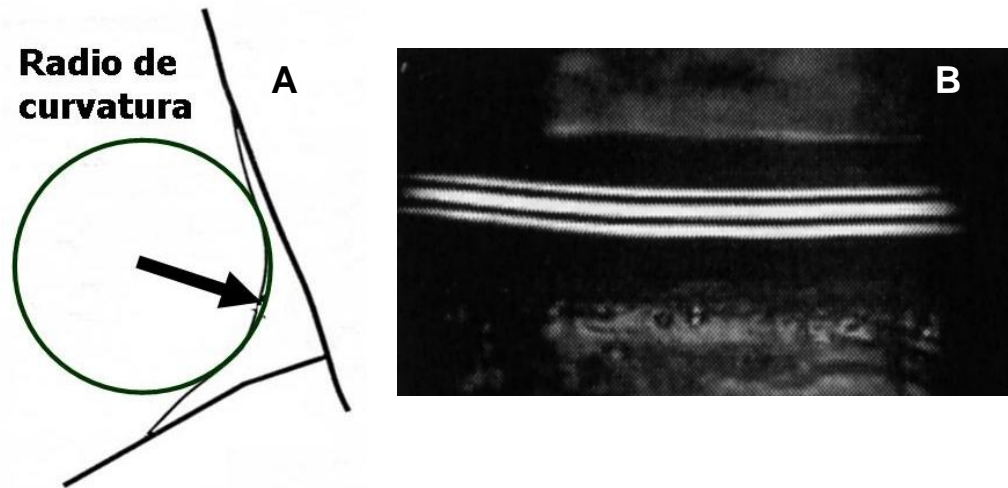


Figura 27. Radio de curvatura del menisco lagrimal (TMR). A) TMR determinado de perfil por Mainstone et al.²⁴ B) TMR determinado de frente, por medio de una mira o “meniscometría” determinado por Oguz et al.¹⁸⁰

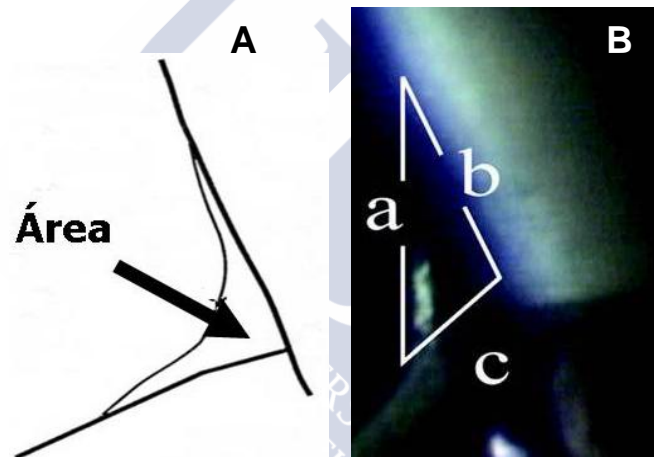


Figura 28. Área del menisco lagrimal (XSA) con el método de A) Mainstone et al²⁴ y B) Glasson et al¹⁵⁵

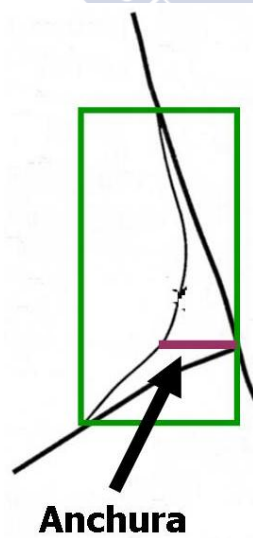


Figura 29. Anchura del menisco lagrimal (TMW) medido por Mainstone et al²⁴

3.3.6.3.1 Técnicas utilizadas para la determinación de la TMH.

La evaluación del TMH se realiza de forma muy frecuente entre los profesionales de la visión y forma parte de la exploración ocular rutinaria.^{184, 185} Normalmente la exploración se realiza mediante la observación del menisco con la LH.

Un método muy utilizado para medir la TMH es mediante el haz vertical de la LH.^{20, 70} Sin embargo, este método es poco fiable y está sometido a muchos errores. Además, cuanto más reducido sea el valor de TMH, más pequeña será la hendidura del haz, con lo que disminuye la iluminación del menisco. Por lo tanto, esta técnica no garantiza una iluminación constante para cualquier valor de TMH. Nichols et al⁷⁰ evaluaron la repetibilidad del TMH usando la hendidura del biomicroscopio y en sus conclusiones recomendaron el uso de un ocular milimetrado para las medidas del TMH con LH.⁷⁰

El método más recomendado para medir la TMH con LH es mediante el uso de un ocular milimetrado.^{23, 39, 176-179} En este caso se recomienda utilizar grandes aumentos (magnificación del objetivo del biomicroscopio de 40X), para garantizar una resolución mínima aceptable, con lo que se suele obtener un rango mínimo de medida de 0,05 mm.³⁸ Sin embargo, resulta difícil medir con este método debido a los micromovimientos del ojo, cuyo efecto se acentúa debido a la gran magnificación del biomicroscopio.

Además de la LH también se han utilizado otros instrumentos para medir la TMH, tal como paquimetría óptica, o el Tearscope-Plus,¹⁸⁶ con el que se realiza la imagen del menisco considerablemente. También se han realizado estudios de la TMH con un material más sofisticado, como la cámara DR-1¹⁸⁷ o la tomografía de coherencia óptica (OCT),^{178, 188, 189} aunque estas últimas técnicas se extralimitan con respecto al material más comúnmente encontrado en la consulta de atención primaria.

Para evitar la influencia de los movimientos oculares y garantizar más repetibilidad de las medidas, se ha introducido la captura vídeos o imágenes,^{179, 190, 191} donde el menisco se medía a posteriori en un monitor¹⁹⁰ o mediante otros métodos.^{178, 179}

Actualmente esto se puede llevar a la práctica con más facilidad, ya que cada vez es más común lámparas de hendidura con una cámara digital incorporada.

3.3.6.3.2 Parámetros para medir la TMH con lámpara de hendidura.

Existen discrepancias en la determinación del TMH con LH. Algunos estudios han determinado la TMH con el sistema de iluminación y observación enfrente al menisco o “a las seis horas” (**Figura 26**),^{38, 179, 192, 193} mientras que otros lo han determinado tangencialmente al paciente, con lo que se obtiene el perfil del menisco (**Figura 26B y C**).^{38, 194, 195}

Aunque normalmente la TMH se mide de frente o a las 6 horas,^{38, 179} es muy difícil determinar el límite superior del menisco, debido principalmente al poco contraste que existe entre el límite superior transparente del menisco y el fondo. Por lo tanto, se han definido dos métodos para calcular la altura del menisco lagrimal:

- *Altura del menisco lagrimal Absoluto (TMH-A)*^{38, 176, 178, 192, 193, 196} (**Figura 30**): Indica la medida estándar, es decir, desde el párpado inferior hasta el límite superior del menisco, lo que puede ser muy difícil dado el poco contraste entre el límite superior del menisco y el fondo.

- *Altura del menisco lagrimal del reflejo (TMH-R)*^{179, 190, 197} (**Figura 30**): Dada la dificultad del menisco total, este parámetro se determina desde el párpado inferior hasta el reflejo brillante que se visualiza en el menisco, con lo que es más fácil de distinguir

para el observador. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el valor del menisco encontrado con este método es inferior.³⁸

También se ha hecho el estudio del TMH en diferentes localizaciones a lo largo del párpado inferior, es decir en posición nasal y temporal con respecto al centro. Con ello se puede estudiar la regularidad del menisco.^{38, 194, 195}

Debido a la falta de contraste para observar el límite superior del TMH, algunos autores han utilizado la instilación de fluoresceína, con lo que se mejora el contraste y se facilita la visualización del menisco,^{24, 39, 180, 198} pero esto puede reducir la estabilidad de la PL provocando lagrimación refleja y valores sobrestimados del TMH.^{130, 133, 134}

3.3.6.3.3 Valoración subjetiva del menisco lagrimal.

A pesar de los métodos objetivos para cuantificar la TMH, la evaluación subjetiva del aspecto del menisco es la forma más común de estudiar el TMH en la clínica diaria, siendo considerada como una parte rutinaria de la exploración ocular.¹⁹⁹ Los rasgos principales del menisco que se evalúan cualitativamente son la presencia/ausencia de detritus o espumilla, si el menisco es regular o irregular, y la estimación subjetiva de su altura.^{27, 200-202} Sin embargo esta evaluación tiene la desventaja de estar sometida a la apreciación subjetiva del observador, lo que requiere entrenamiento. Además, el método de anotación de los hallazgos clínicos varían entre observadores.

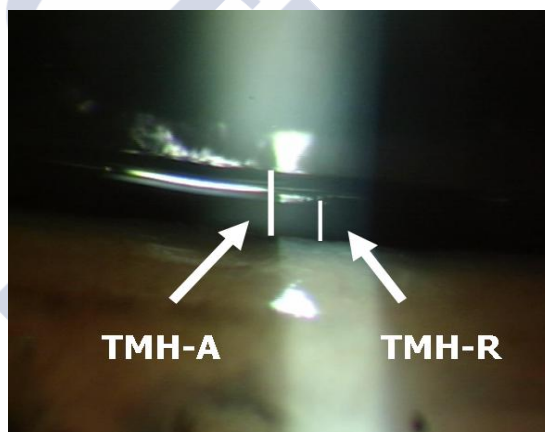


Figura 30. Altura del menisco lagrimal total (TMH-A) y altura del menisco reflejo (TMH-R)

3.3.6.3.4 Valor normal de la TMH

Aunque se suele referir que el valor normal de TMH es 0,2 mm,²¹ se han publicado diversos valores normales de la TMH. De echo, en la literatura científica los valores medios del TMH varían entre 0.14 and 0.46 mm^{23, 24, 38, 39, 176-180, 190, 192-194, 197}, lo que se explica por distintos factores, tal como la técnica de observación utilizada. Esto implica que las medidas de TMH pueden ser sobrestimadas o infraestimadas o más o menos repetibles. Se ha encontrado que las medidas de TMH con lámpara de hendidura con un ocular milimetrado están más sujetas a los errores subjetivos^{23, 39, 176-179} Otros autores han utilizado fotografías para medir la TMH, o incluso técnicas más sofisticadas como el OCT. En la Tabla 2 se muestra un resumen de los valores medios de TMH publicados por diferentes autores mediante distintos procedimientos. A pesar de existir otros métodos más sofisticados para evaluar la TMH, el método más frecuentemente utilizado en la clínica diaria es la determinación del TMH con LH. Para ello se recomienda el uso de un ocular milimetrado.

Tabla 2. Valores de la altura del menisco lagrimal encontrados por distintos autores. TMH-A: Altura del Menisco Lagrimal Absoluta. TMH-R: Altura del Menisco Lagrimal hasta el Reflejo.

Observación directa					
Autor	Parámetro	TMH	Muestra	Método	Vista
(Lamberts, 1979) ¹⁷⁶	TMH-A	0,23	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(Port and Asaria, 1990) ¹⁹⁷	TMH-R	0,18	Normal	Paquímetro	Frente
(Lim and Lee, 1991) ³⁹	TMH-A	0,19	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(Miller y cols, 2004) ¹⁷⁷	TMH-A	0,25	Ojo seco	Ocular milimetrado	Frente
(Tomlinson y cols. 2001) ²³	TMH-A	0,35	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(Santodomingo-Rubido y cols., 2006) ¹⁷⁹	TMH-R	0,12	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(Patel and Wallace, 2006) ¹⁹²	TMH-A	0,19	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(García-Resúa y cols. 2009) ³⁸	TMH-A	0,25	Normal	Ocular milimetrado	Frente
	TMH-R	0,13	Normal	Ocular milimetrado	Frente
(Savini y cols. 2006) ⁴⁰	TMH-A	0,25	Normal	OCT	Frente
Técnica de captura de imágenes					
Autor	Parámetro	TMH	Muestra	Vista	
(Mainstone y cols, 1996) ²⁴	TMH-A	0.46	Normal	Tangencial	
	TMH-A	0.24	Ojo seco	Tangencial	
(Oguz et al, 2000) ¹⁸⁰	TMH-A	0.24	Ojo seco	Tangencial	
(Kwong and Cho, 2001) ¹⁹³	TMH-A	0.24	Normal	Frente	
	TMH-A	0.17	Ojo seco	Frente	
(Doughty et al, 2002) ¹⁹⁰	TMH-R	0.19	Normal	Frente	
(Johnson and Murphy, 2005) ¹⁷⁸	TMH-A	0.34	Normal	Frente	
(Santodomingo-Rubido y cols., 2006) ¹⁷⁹	TMH-R	0.13	Normal	Frente	



4 MATERIAL Y MÉTODOS





A continuación se detalla las características generales de los sujetos utilizados en esta tesis, así como el protocolo de exploración realizado.

4.1 SUJETOS

Los sujetos que formaron parte de esta tesis eran pacientes examinados en el Servicio de Optometría (SO) situada en la facultad de Óptica y Optometría de la USC y derivados el servicio de vigilancia de la salud de la USC.

El SO es un centro acreditado por la Xunta de Galicia, Consellería de Sanidad, desde el 11 de enero de 2011, e inscrito en el registro de centros y establecimientos sanitarios de la Comunidad Autónoma de Galicia (nº de registro de centros e establecimientos sanitarios C-15-002430). Actualmente el SO mantiene un convenio de colaboración con el Servicio de vigilancia de salud de la USC para la evaluación y el diagnóstico del ojo seco evaporativo. El Servicio de vigilancia de salud es una sección del servicio de riesgos laborales de la USC encargado de promover la salud y seguridad de los trabajadores de la USC y para eso diseña, aplica y coordina los planes y programas de actuación preventiva, evalúa los factores de riesgo que puedan afectar a la seguridad y salud del personal, y promueve la información e implicación de todos en la cultura preventiva.

La población de estudio incluida en esta tesis, procedente del Servicio de Optometría, era una población sana, siendo el criterio de exclusión utilizado padecer enfermedades oculares y/o sistémicas con repercusión ocular.⁵⁴



Figura 31. Servicio de Optometría. A) Entrada. B) Interior. C) Gabinete de exploración optométrica. D) Gabinete de investigación donde se realizó esta tesis.

4.2 PROTOCOLO DE PRUEBAS REALIZADAS

Previo a la realización del protocolo de pruebas de la película lagrimal, se verificó que los pacientes no presentaban ninguna contraindicación para ser incluido según los criterios de exclusión comentados anteriormente. Para ello se realizó una anamnesis para descartar cualquier medicación o enfermedad sistémica y se realizó una exploración del polo anterior con LH para verificar que los pacientes no presentaban ninguna enfermedad ocular que pudiera alterar el estudio.

Una vez verificado que los pacientes eran adecuados para participar como sujetos de este estudio, fueron informados de los procedimientos y dieron su consentimiento por escrito (**Anexo 1**).

A todos los sujetos se les realizó el siguiente protocolo de pruebas de la película lagrimal y se aseguró que entre las distintas pruebas transcurrieran mínimo 5 minutos para evitar la interacción entre los resultados de las mismas derivadas por la secreción refleja.²¹

A lo largo de todo el protocolo de evaluación, las condiciones de laboratorio de la temperatura, la luz y la humedad se mantuvieron constantes (temperatura de 20-23 ° C, humedad 50-60%)⁵⁴

4.2.1 Osmolaridad Tear Lab

Ésta fue la primera prueba del protocolo de exploración. Para ello, el paciente se situó en un sillón con respaldo, asegurándose siempre que la cabeza estuviera bien apoyada, y se le pidió que levantara ligeramente la cabeza y mantuviera la mirada en dirección súperotemporal. A continuación, en el lápiz portátil del Tear Lab se montó la tarjeta o sonda que contenía el microchip desechable. Posteriormente, se situó la sonda del Tear Lab en el menisco lagrimal inferior hasta que un sonido indicaba que se había recogido la muestra de 0,05 µl de lágrima (**Figura 32**).^{36, 203} Desde la colocación de la sonda en el menisco del paciente hasta la recolección de la muestra transcurría muy poco tiempo, alrededor de un segundo. Si la recolección de la muestra se prolongaba con el tiempo, se le pedía al paciente que parpadeara y se procedía con otra tarjeta. Una vez obtenida la muestra, se situaba el lápiz en el sistema lector del Tear Lab (mediante conexión USB) y se obtenía el valor de osmolaridad en mOsm/L. Después de la medida, se retiraba la tarjeta del lápiz y se desechaba la tarjeta.^{36, 203}



Figura 32. Medida de osmolaridad con el osmómetro TearLab.

Tal como recomiendan los fabricantes, en cada sesión, y previo a la realización de las medidas de osmolaridad, se procedió a verificar el calibrado del instrumento mediante el uso de la tarjeta de verificación (**Figura 33A**). Ésta tarjeta se acoplaba al lápiz (**Figura 33B**), que a su vez se situaba en el sistema lector para verificar una lectura de osmolaridad de 334 ± 2 mOsm/L.^{36, 203} En caso de no obtener esta medida se solicitaba al fabricante una calibración del instrumento. En todo el trabajo de campo la tarjeta de verificación nunca mostró un valor fuera del rango aceptable, por lo que nunca fue necesaria la re-calibración.

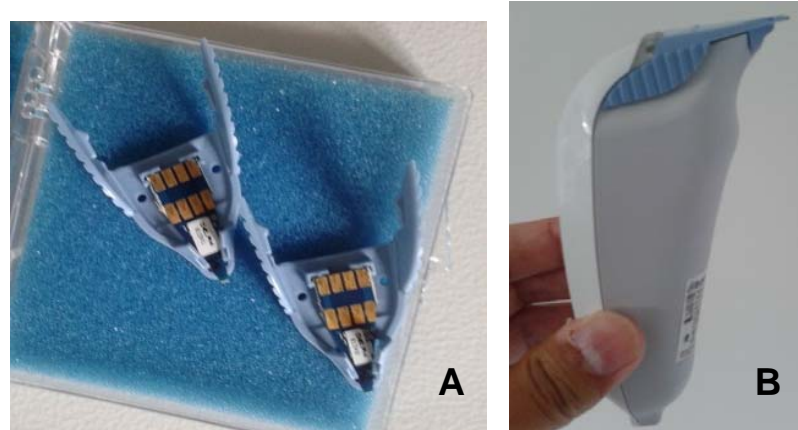


Figura 33. A) tarjetas para la calibración del TearLab. B) Lápiz del TearLab con la tarjeta de calibración.

4.2.2 Meibometro MB 550

Posteriormente a la medida del Tear Lab, se procedió a la medida de la grasa meibomiana del párpado inferior con el meibómetro MB550.

Para ello, se utilizó una cinta sintética disponible con el meibómetro, la cual se dobla formando un bucle (**Figura 34A**). Esta cinta se presenta enrollada en un cassette para evitar que se contamine. Para cada medida se retiró del cassette una longitud de cinta de 17 cm y se depositó sobre una regla, apoyándose en su cara brillante. Posteriormente se hicieron dos marcas, a 3 y 6 cm (**Figura 34B**), como guía para formar un bucle con una forma constante, de forma que la porción mate de la cinta esté más exterior, ya que es la que recoge la medida. Una vez formado el bucle, se graparon los extremos de la cinta.

Para obtener una muestra del paciente se procedió a evertir ligeramente el párpado inferior mientras que éste mantenía la mirada superior. A continuación se situó la cinta en la porción central del borde palpebral inferior durante 10 segundos (**Figura 35A**)^{170, 173}. Debido a la estandarización en la construcción del bucle de la cinta, la presión que se ejerce durante la medida es constante y suficiente para recoger un porcentaje de grasa meibomiana con mínima distorsión del párpado inferior^{161, 173, 175}. La zona de contacto entre la cinta y el párpado se podía apreciar de forma translúcida a través de la cinta. Si durante la medida el paciente parpadeaba, ésta se repetía. Una vez obtenida la muestra la cinta se secaba durante 1 minuto a la temperatura ambiente (para la evaporación de la componente acuosa de la película lagrimal). Posteriormente la cinta se situaba en la cabeza de medición del meibómetro y se tensaba para que se mantuviera lisa, mientras que con la otra mano se presionaba la cabeza de medición. Una vez realizados estos preparativos, se procedía a mover la cinta de derecha a izquierda para que la unidad fotométrica situada en la cabeza de medición obtuviera la lectura de la cinta (**Figura 35B**).

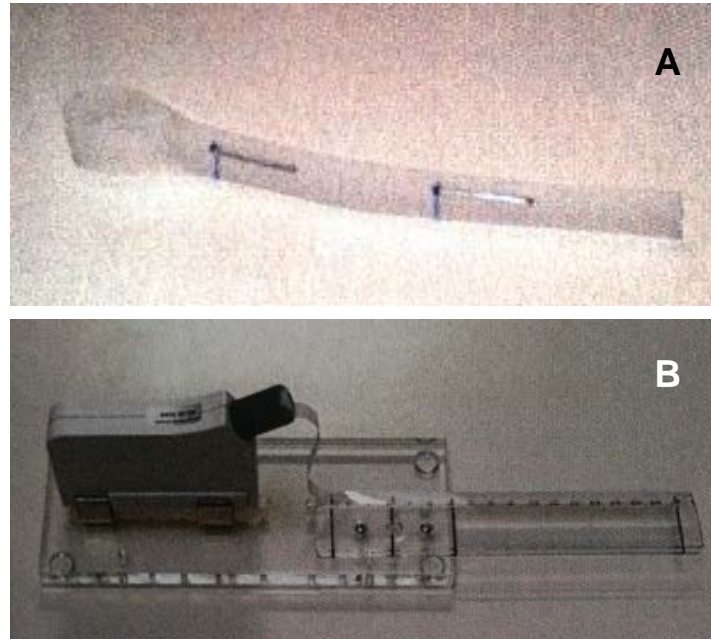


Figura 34. A) cinta sintética formando preparada para medir. B) Retirada de la cinta del cassette para su preparación.

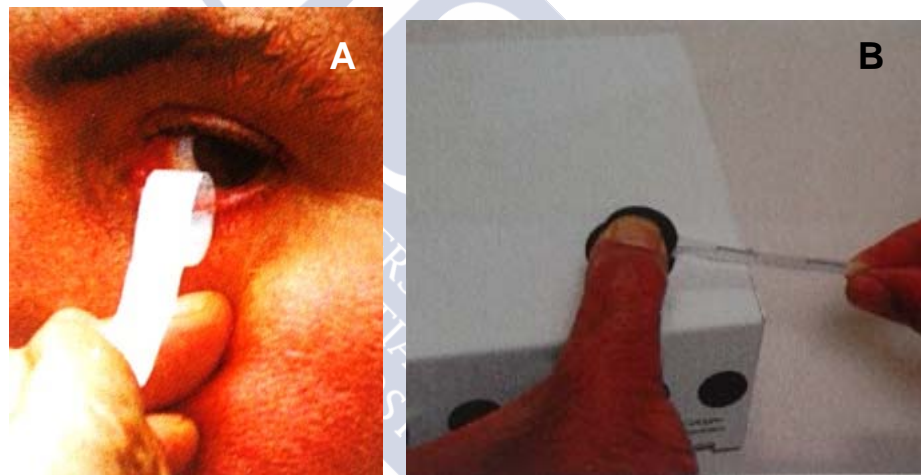


Figura 35. A) Recogida de muestra de lípido del borde palpebral inferior del paciente. B) Lectura del lípido recogido del paciente.

Los resultados se mostraban en el software mediante datos en **unidades meibométricas (UM)** y curvas características. Hay que señalar que las medida máximas correspondían con la zona más densa (con más lípido meibomiano) de la cinta, mientras que los valores mínimos (valores de cero) correspondían con áreas de la cinta que no contenían lípido meibomiano⁴². Una vez obtenida la lectura de la cinta, ésta se desechaba, por lo que se utilizaba una cinta por cada ojo.

Previo a la obtención de las medidas, se procedía a verificar si la unidad de medición no estaba contaminada. Para ello se procedía a realizar una calibración a cero. La cinta de medición se situaba en la cabeza de medición y se movía de izquierda a derecha. En el caso de que la cinta estuviera sucia aparecía el mensaje “*Renew please the measuring foil*”, se procedía a limpiar la unidad de medición y se repetía la calibración hasta que apareciera el mensaje “*Ready to measure*”.

Para cada ojo, es decir para cada cinta, se obtuvieron un total de 5 curvas de medición. El meibómetro proporciona las medidas (**Figura 36**) en unidades meibométricas [UM]^{161, 175, 204}, que se pueden convertir en equivalentes de Laurato Lauril [$\mu\text{g}/\text{mm}^2$] de la superficie del borde palpebral, dividiendo por un factor de 60^{42, 161, 175}.

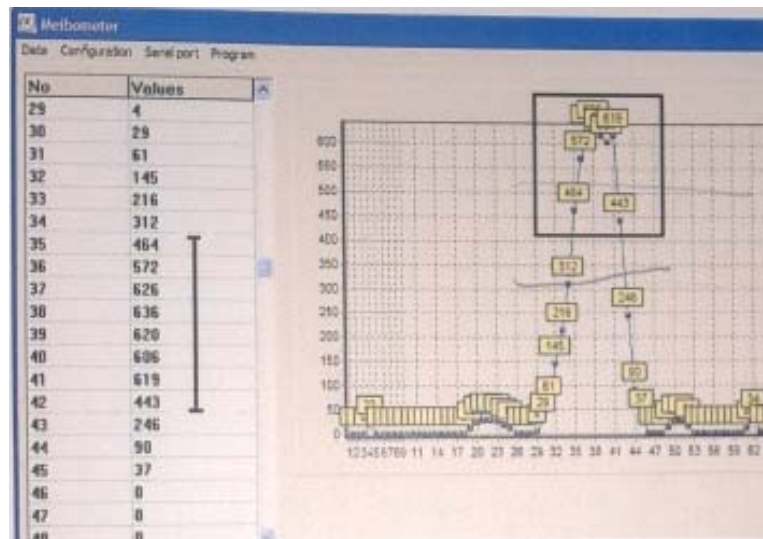


Figura 36. Unidades meibométricas y curva característica. Los fabricantes recomiendan tomar los valores del “pico” de la curva característica (indicado con un cuadro) pero no especifican cuántas medidas del pico hay que considerar.

4.2.3 Cuestionarios estandarizados de síntomas

Posteriormente se procedió a cubrir los dos cuestionarios estandarizados de síntomas, el cuestionario *McMonnies* y el “*Ocular Surface Disease Index*” (*OSDI*). Para evitar confusión en la interpretación de las preguntas por parte del paciente, en lugar de entregar los cuestionarios y que los cubrieran por su cuenta, el observador procedió a formular y explicar cada una de las preguntas y respuestas, mientras que el paciente respondía verbalmente. Una vez obtenidos los resultados de ambos cuestionarios se contabilizaron las respuestas siguiendo la formulación específica de cada uno de ellos:

4.2.3.1 Cuestionario McMonnies

Este cuestionario ofrece una puntuación distinta según la respuesta del paciente y de la gravedad de cada ítem. Para ello está disponible una plantilla que indica la puntuación de todas las respuestas. En el **Anexo 2** se muestra el test de McMonnies.

4.2.3.2 Cuestionario OSDI

En este cuestionario cada respuesta tiene una puntuación de 0 a 4 según la frecuencia de la condición en cuestión. Siguiendo la guía de los diseñadores del cuestionario se estableció la puntuación OSDI según la siguiente expresión:

$$OSDI = \frac{Puntuación\ Total \times 25}{Número\ de\ respuestas\ contestadas}$$

Donde la puntuación total es la suma de la puntuación obtenida de todas las preguntas del cuestionario, y el número de respuestas contestadas se refiere a cuántas

preguntas, de las 12 que compone el cuestionario, respondió con una puntuación de 0 a 4, es decir, no cubrió la casilla de “no contesta (N/A)”. En el **Anexo 3** se muestra el cuestionario OSDI.

4.2.4 Técnicas de evaluación de la película lagrimal con lámpara de hendidura.

A continuación se procedió a realizar las pruebas que requerían el uso de la LH, es decir, **la evaluación de los patrones lipídicos interferenciales**, y **la valoración del menisco lagrimal**. Para ello, en todo momento se le pidió al sujeto que apoyara el mentón y la frente en la mentonera mientras mantenía la posición primaria de mirada en un punto de fijación enfrente a éste.

El biomicroscopio o LH utilizado en esta tesis fue la Topcon modelo SL-D4, que es una LH digital cuyo objetivo tiene 5 aumentos (6X, 10X, 16X, 25X y 40X), e incluye los filtros azul cobalto y filtro amarillo. Además lleva incorporada una cámara de vídeo digital DV-3 de 3,14 megapíxles.

Todas las pruebas que se realizaron con la LH se grabaron en vídeo mediante la cámara DV-3 acoplada a la LH. Asimismo, se almacenaron en el disco duro de un PC mediante el programa **Topcon IMAGEnet i-base**, (**Figura 37**) el cual permite la gestión de los pacientes.

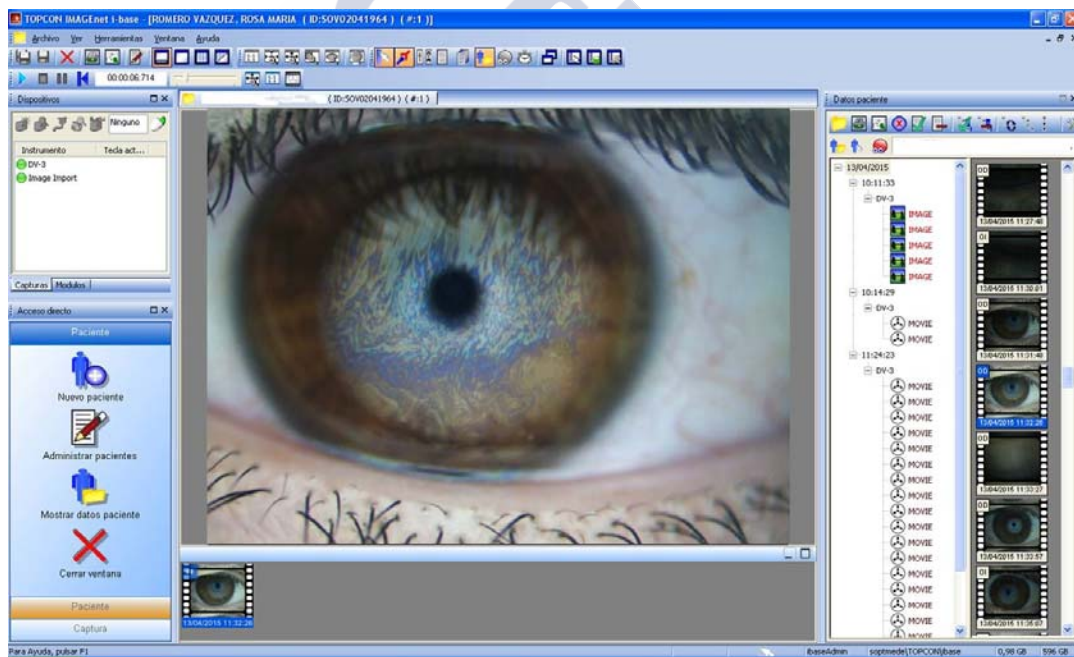


Figura 37. Software TopconIMAGEnet i-base para la gestión de la adquisición y almacenamiento de los vídeos.

4.2.4.1 Evaluación de los patrones lipídicos interferenciales

La evaluación de la capa lipídica lagrimal se evaluó utilizando el Tearscope-plus acoplado a una LH Topcon SL-D4 por medio de un soporte que se utiliza para acoplar el tonómetro Goldman modelo R900 (**Figura 18**). La magnificación del biomicroscopio se estableció en 200X (magnificación del objetivo; 16X, magnificación del ocular; 12.5X) y la iluminación la proporcionaba el Tearscope. Este instrumento ofrece dos intensidades de iluminación, para todas las medidas se utilizó el nivel de mayor intensidad.

4.2.4.1.1 Tamaño de los PLIs.

Durante el proceso de adquisición de vídeos se enfocó el PLI moviendo el mando de la LH junto con el Tearscope. A medida que se acercaba el Tearscope al sujeto, el área de observación del PLI era mayor. Se apreció que los PLIs de iris oscuros eran más fáciles de valorar que en los casos de ojos claros, debido principalmente a que en los ojos claros se pueden apreciar los rasgos del iris a través del PLI, interfiriendo con el patrón. Para evitar este problema, se redujo la región de interés en los ojos claros para aumentar la intensidad del patrón, con lo que los rasgos de los iris se enmascaraban mejorando la visibilidad. Por lo tanto, se consideraron dos áreas de interés:

- Área de interés pequeña
 - o **Área 1:** 4 mm de diámetro, (**Figura 40A y Figura 40B**)
- Área de interés grande
 - o **Área 2:** 7 mm de diámetro, (**Figura 40C y Figura 40D**)

Para asegurarse que no había variación en el tamaño del área de observación durante el proceso de adquisición, el Tearscope se fijó a la LH tal que la distancia entre la mentonera y el instrumento se mantuvo constante durante el procedimiento de imagen. Para el **Área 1**, el Tearscope estaba en contacto con el objetivo del biomicroscopio (**Figura 38A**), mientras que para el **Área 2** el Tearscope se alineó con el extremo del soporte (**Figura 38B**).

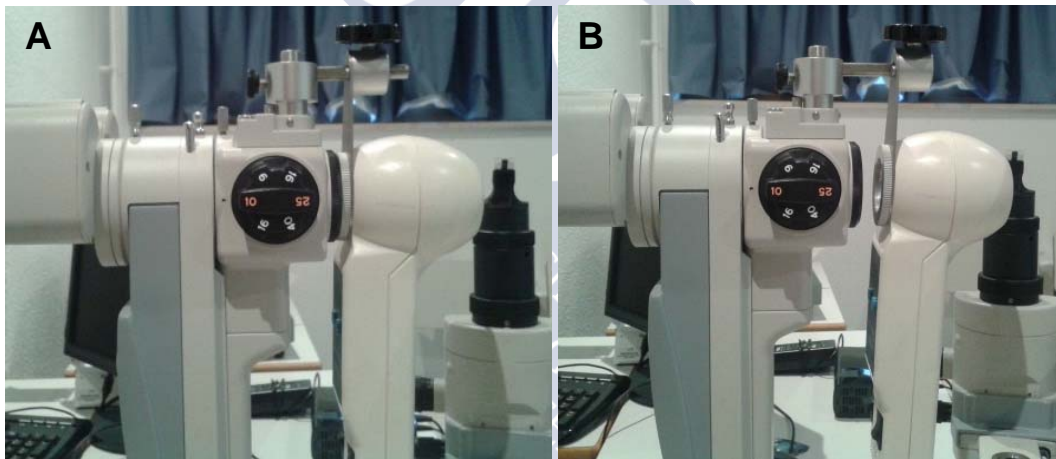


Figura 38. Posición del Tearscope para obtener el tamaño A) Área 1 y B) Área 2

Durante todo el proceso de adquisición de cada vídeo, independiente del área de medida, todos los sujetos fueron instruidos a que mantuvieran la mirada en un punto de fijación mientras se centraba el área de interés de la capa lipídica. Se les pidió que parpadearan tres veces para obtener una imagen estable del patrón.⁴⁶

4.2.4.1.2 Iluminación de los PLIs.

La iluminación de los videos se monitorizó con el software Topcon IMAGEnet i-base. Con este software se pueden variar las características de iluminación del vídeo, mediante unos parámetros propios de Topcon. Para ello el nivel de ajuste de iluminación se puede hacer de forma continua desplazando una barra digital, o por medio de unos ajustes prefijados.

En este estudio se seleccionaron dos niveles de iluminación:

- Imagen más oscura
 - o **Iluminación 1**: 16 unidades, (**Figura 40A** y **Figura 40C**).
- Imagen más brillante
 - o **Iluminación 2**, 28 unidades, (**Figura 40B** y **Figura 40D**).



Figura 39. Imagen del control de iluminación del software Topcon IMAGEnet i-base. (a) 4 niveles discretos de iluminación. (b) Barra del nivel de iluminación que indica 28 unidades (Iluminación 2).

4.2.4.1.3 Tamaño e iluminación de los PLIs.

Por lo tanto, realizando los ajustes de tamaño e iluminación comentados anteriormente, en todos y cada uno de los sujetos se determinaron cuatro vídeos del PLI, cada uno con distintas configuraciones de área de interés y de iluminación:

- Area 1 / iluminación 1 (**Figura 40A**)
- Area 2/iluminación 1 (**Figura 40B**)
- Area 1/iluminación 2 (**Figura 40C**)
- Area 2/iluminación 2 (**Figura 40D**)

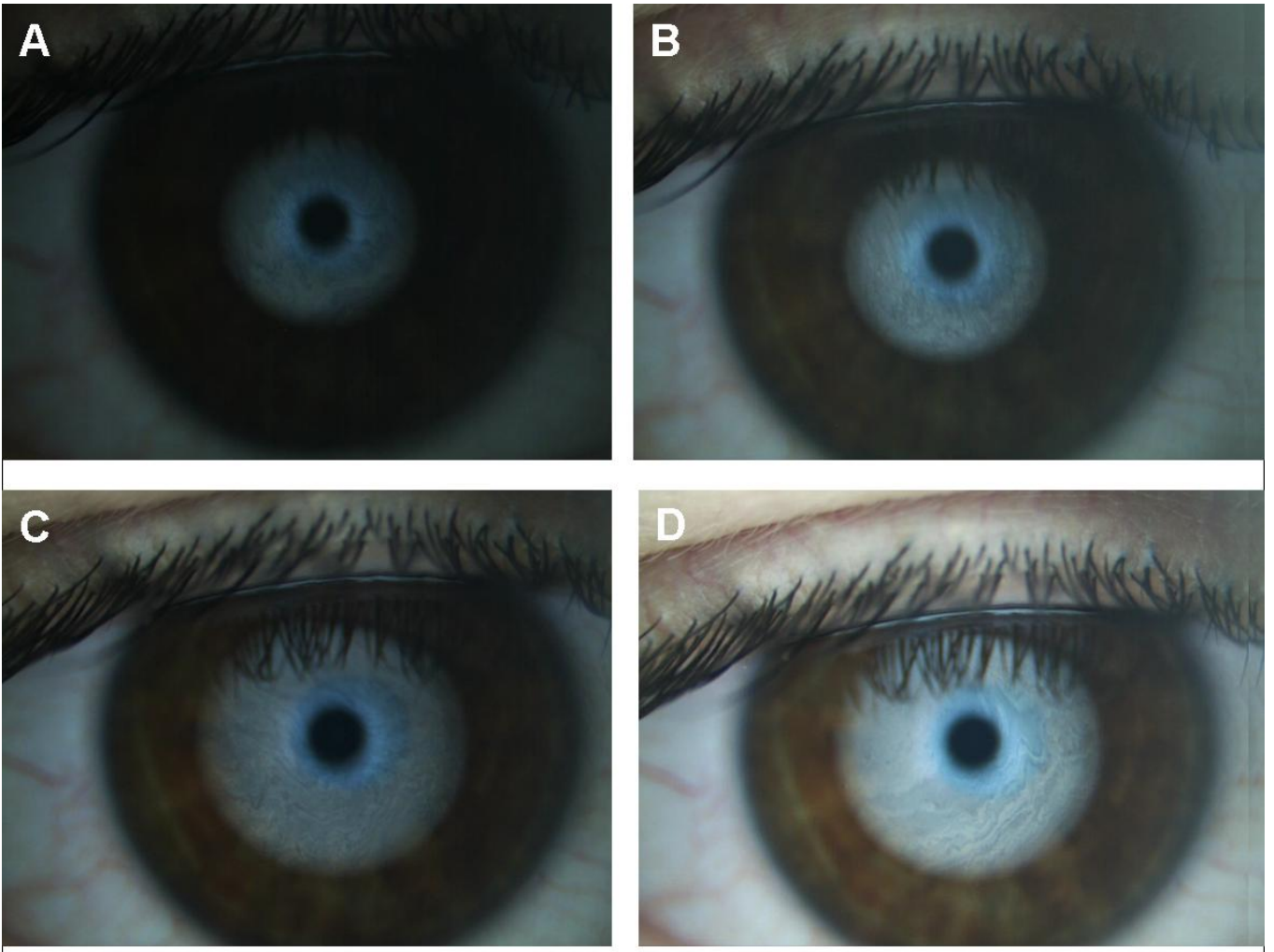


Figura 40. A) Patrón con tamaño pequeño (A1) e iluminación oscura (I1) ; B) Patrón con área pequeña (A1) e iluminación alta (I2); C) Patrón con área grande (A2) e iluminación oscura (I1); D) Patrón con área grande (A2) e iluminación alta (I2).

4.2.4.1.4 Características y procesamiento de las imágenes obtenidas del PLI.

Los vídeos capturados se obtuvieron con una resolución de 1024x768 píxels en el espacio de color RGB. Posteriormente, se extrajeron de los vídeos cuando el patrón lipídico estaba completamente extendido después del parpadeo, es decir, cuando el movimiento de la capa lipídica hacia arriba después del parpadeo se había detenido o mantenido mínimamente constante. Con estas imágenes se procedió a realizar los estudios relacionados con los PLIs.

4.2.4.2 Altura del menisco lagrimal

Para el estudio del menisco lagrimal se utilizaron dos sistemas de observación distintos, por un lado el sistema de observación propiamente dicho del biomicroscopio o LH Topcon SL-D4, y por otro lado se utilizó el Tearscope Plus acoplado al biomicroscopio mediante el mismo soporte que se utiliza para acoplar el tonómetro Goldmann modelo R900 (**Figura 38A**). La magnificación utilizada en todas las imágenes del menisco fue la máxima; 500x (magnificación del objetivo; 40X, magnificación del ocular; 12.5X).

Los sujetos se posicionaron en la mentonera y se les pidió que observaran un punto de fijación mientras se capturaba el vídeo del menisco lagrimal inferior.

4.2.4.2.1 Adquisición del menisco lagrimal inferior con el Tearscope Plus como sistema de observación.

Con el Tearscope Plus acoplado a la LH, después de evaluar el PLI, se procedió a capturar vídeos del menisco lagrimal. La iluminación era proporcionada por el propio Tearscope, con la LH apagada (**Figura 38A**). Este instrumento proporciona dos niveles de iluminación, durante todo el proceso de captura se utilizó el de mayor iluminación. Una vez el paciente situó su cabeza en la mentonera, se le pidió que mantuviera la mirada en un punto de fijación mientras se procedía con la adquisición de vídeos del menisco lagrimal central (**Figura 41**).



Figura 41. Aspecto del menisco lagrimal con Tearscope.

4.2.4.2.2 Adquisición del menisco lagrimal inferior con lámpara de hendidura como sistema de observación.

Con el sujeto posicionado en la mentonera, mientras observaba un punto de fijación, se procedió a grabar vídeos del menisco lagrimal inferior de tres formas distintas; una central al menisco y dos localizaciones paracentrales (una nasal y otra temporal). En todos los casos, con el fin de evitar el lagrimeo reflejo, se utilizó una hendidura de luz estrecha (3 mm de anchura y 5 mm de altura) con iluminación moderada.

Menisco lagrimal central

Para la observación de este menisco se procedió a posicionar el haz de luz vertical en el centro del menisco, o a las seis horas (**Figura 42**).

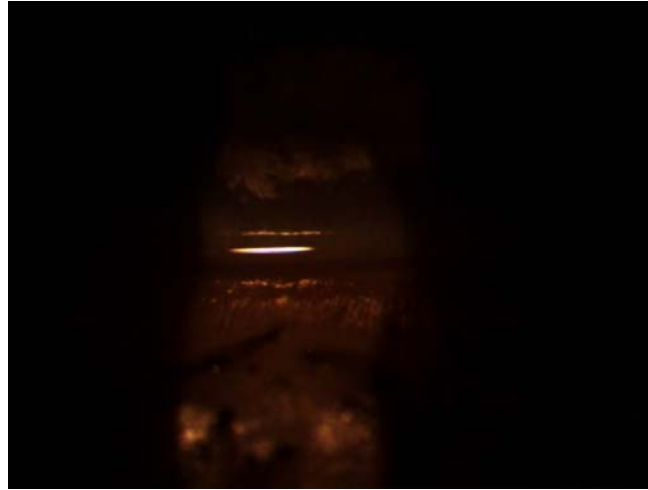


Figura 42. Aspecto del menisco lagrimal con lámpara de hendidura.

Menisco lagrimal nasal y temporal

En este caso, se situó el haz de luz vertical tangente al limbo esclero corneal nasal y temporal para capturar el menisco lagrimal inferior nasal y temporal, respectivamente.

Menisco lagrimal con Fluoresceína

Cinco minutos después, se instilaron 2 μ l de fluoresceína sódica al 2% en la conjuntiva temporal inferior mediante una micropipeta^{25, 198, 205, 206}. El sujeto fue instruido para que parpadeara de dos a tres veces de forma natural, sin hacer parpadeos fuertes, para distribuir uniformemente la fluoresceína en toda la córnea¹⁹⁸. Después de 30 segundos de la instilación de fluoresceína, el ojo del paciente se observó con la LH usando un filtro azul cobalto junto con un filtro amarillo Wratten 12 (incorporado en el biomicroscopio) para realzar la visibilidad de la película lagrimal¹⁹⁸ (Figura 1G).

En todas las capturas del menisco lagrimal, los sistemas de iluminación y de observación se ajustador a cero grados o lo más próximo tal que permitiera la grabación del menisco con el reflejo del filamento de luz.³⁸



Figura 43. Aspecto del menisco lagrimal con lámpara de hendidura e instilación de fluoresceína.

4.2.4.3 Características y procesamiento de las imágenes obtenidas del menisco lagrimal.

De la misma forma que con el PLIm, los vídeos de los meniscos lagrimales se obtuvieron con una resolución de 1024x768 píxels en el espacio de color RGB. Posteriormente, se extrajeron las imágenes cuando, después del parpadeo, no se apreciaba movimiento del menisco y éste se había distribuido a lo largo del borde libre palpebral inferior de la forma más regular posible.

Una vez obtenidas las imágenes se procedió a analizarlas de forma *objetiva* (cuantificando el valor de la altura del menisco) y *subjetiva* (evaluando el aspecto del menisco)

4.2.4.3.1 Valoración objetiva del menisco

Para la cuantificación del TMH se utilizó la aplicación informática ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD;²⁰⁷. Este es un programa de edición de imágenes basado en Java y de código abierto, que se puede descargar gratuitamente en <http://imagej.nih.gov/ij/>.

Todos los parámetros del TMH se midieron de las imágenes extraídas con el programa ImageJ (**Figura 44**). En todos los casos, el TMH se marcó con la herramienta “*straight tool*”, la cual permite al usuario marcar una línea en cualquier posición y tamaño (**Figura 44**). Esta línea se situó perpendicular al margen palpebral, desde el límite inferior hasta el límite superior dependiendo del parámetro del menisco estudiado. Posteriormente, se calculó la longitud de la línea mediante el comando “*Analyse > Measure*”, donde el software obtiene la longitud de la línea en píxels.

Se estableció la correspondencia entre los milímetros reales y los píxels contados por el programa ImageJ mediante una regla posicionada verticalmente en frente del biomicroscopio y con una magnificación de 500x (objetivo; 40X, ocular; 12.5X), estableciéndose que 1 milímetro real se correspondía con 300 píxels.

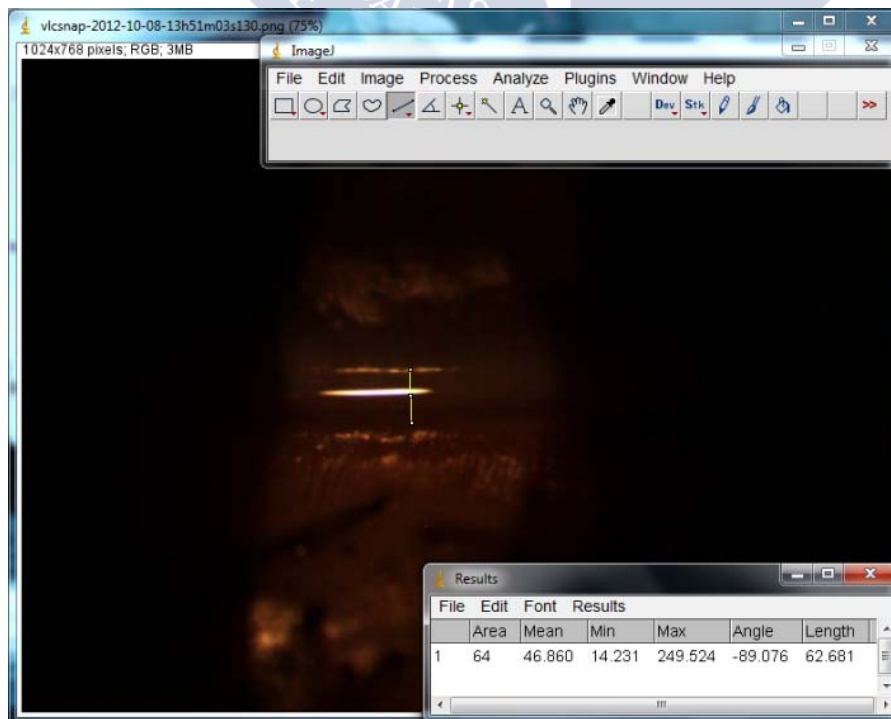


Figura 44. Software ImageJ para determinar la TMH. Para ello se traza una línea vertical que defina la TMH. El software mide la longitud de la línea en píxels.

Con el programa ImageJ se terminaron los parámetros de TMH definidos anteriormente:³⁸

- *Parámetros que miden el menisco central (medido a las seis horas :*
 - *Sistema de observación con LH:*
 - Menisco central absoluto (TMH-CA, **Figura 45A**): Distancia desde el borde libre del párpado inferior y el límite superior del menisco
 - Menisco central reflejo (TMH-CR, **Figura 45B**): Distancia entre el borde libre del párpado inferior y el reflejo más brillante del menisco.
 - Menisco central con fluoresceína (TMH-F, **Figura 45C**): Distancia entre el borde libre del párpado inferior y el límite superior del menisco teñido con fluoresceína.
 - *Sistema de observación con Tearscope Plus:*
 - Menisco central absoluto (TMH-Tc, **Figura 46A**): Distancia entre el borde libre del párpado inferior y el límite superior del menisco
 - Menisco central reflejo (TMH-TcR, **Figura 46B**): Distancia entre el borde libre del párpado inferior hasta el reflejo del menisco (visto como una línea oscura).
- *Parámetros que miden el menisco Nasal y temporal:* Para estos parámetros sólo se utilizó la LH como sistema de iluminación. En lugar de a las seis horas éstos se tomaron en el borde del limbo esclero corneal nasal y temporal.
 - Menisco absoluto nasal (TMH-NA, **Figura 47A**) y temporal (TMH-TA, **Figura 47B**): Distancia desde el borde libre del párpado inferior hasta el límite superior del menisco
 - Menisco nasal reflejo (TMH-NR, **Figura 47C**) y temporal (TMH-TR, **Figura 47D**): Distancia desde el borde libre del párpado inferior el reflejo más brillante del menisco.

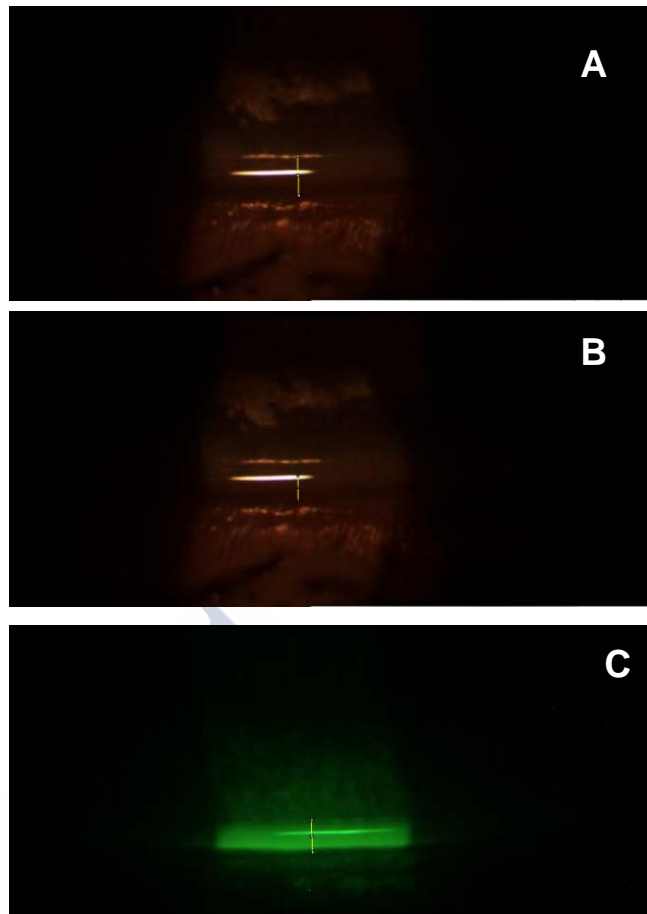


Figura 45. Parámetros que miden el menisco central con lámpara de hendidura. A) TMH-CA, B) TMH-CR, C) TMH-F

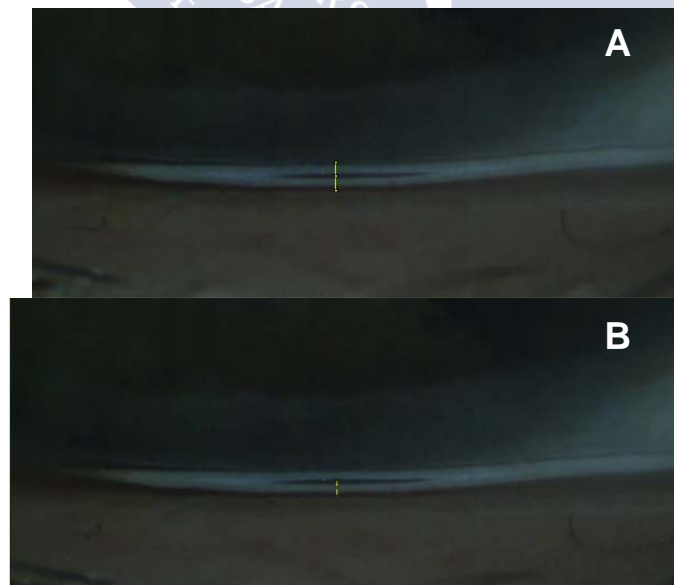


Figura 46. Parámetros que miden el menisco central con Tearscope-Plus. A) TMH-Tc, B) TMH-TcR

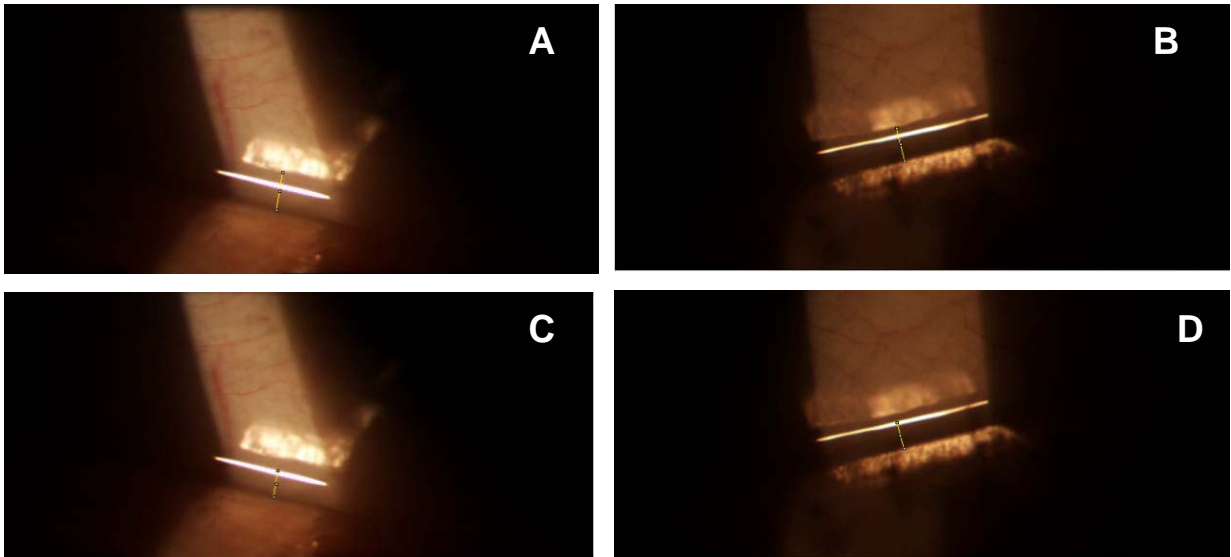


Figura 47. Parámetros que miden el menisco nasal y temporal con lámpara de hendidura. A) TMH-NA, B), TMH-TA, C) TMH-NR, D) TMH-NR

4.2.4.3.2 Evaluación subjetiva del menisco

La evaluación subjetiva del menisco se realizó valorando las imágenes capturadas de los pacientes de acuerdo al esquema modificado de Khurana et al^{38, 200} en cuatro grados de gravedad tal como se muestra en la **Tabla 3**. Los grados 1 y 2 implican un menisco sano, mientras que los grados 3 y 4 representan meniscos anormales, indicativos de ojo seco.

Tabla 3. Descripción de la clasificación subjetiva del menisco basada en Khurana et al²⁰⁰ y García-Resúa et al³⁸

Grado	Grupo	Descripción	
1	Intacto	Menisco de altura variable y forma regular. Ausencia de detritus.	<i>Grados 1 y 2 indican un menisco sano</i>
2	Ligeramente disminuido	Regular, aunque menos visible. Ausencia de detritus.	
3	Marcadamente disminuido o discontinuo	Menisco disminuido de forma irregular. Presencia de detritus.	<i>Grados 3 y 4 representan un menisco anormal.</i>
4	Ausente	Menisco casi invisible.	

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En esta tesis está compuesta por 7 trabajos de investigación en los que se han analizado las siguientes variables:

- Valoración categórica de las imágenes del PLI
- Osmolaridad de la PL determinada con el TearLab
- Puntuación de cuestionarios estandarizados de SOS
 - o OSDI
 - o McMonnies
- Altura del menisco lagrimal
 - o Parámetros objetivos (numéricos) de la TMH
 - o Valoración categórica de las imágenes del menisco lagrimal
- Determinación del “*casual level*” de los lípidos meibomianos del borde libre palpebral mediante meibometría.

Todas las variables utilizadas en este trabajo de tesis se dividen en:

- Variables no paramétricas
 - o La valoración de las imágenes del PLI y la valoración subjetiva del menisco lagrimal son variables categóricas, por lo que en estos casos se utilizaron tests no paramétricos.
 - o La puntuación de los cuestionarios estandarizados no son variables continuas, por lo que hay que utilizar tests no paramétricos.
- Variables paramétricas
 - o El resto de variables eran numéricas, y en todos los estudios se verificó que seguían una distribución normal mediante el test de Kolmogorov – Smirnov ($p > 0,005$) por lo que en su análisis se utilizaron tests paramétricos.

4.3.1 Estadísticos descriptivos

Los estadísticos descriptivos se indicaron como **media y desviación estándar (DE)** mientras que en las variables no paramétricas se expresaron como **mediana y rango intercuartil (IRQ)**²⁰⁸ (esto último sólo se utilizó para la puntuación en los cuestionarios).

4.3.2 Estudio de la correlación entre variables

En los estudios de caracterización de los PLIs se utilizaron tests estadísticos específicos para evaluar la correlación entre variables categóricas, como la ***V de Cramer*** y el ***coeficiente de Kappa***

Cuando se evaluó la correlación de la puntuación de los cuestionarios estandarizados con otras pruebas numéricas se utilizó la **ρ de Spearman**, mientras que cuando se correlacionaban dos variables paramétricas se utilizó el **coeficiente de correlación de Pearson**.

4.3.3 Estudio de la diferencia entre variables.

ANOVA de un factor:

Se utilizó para evaluar las diferencias de los parámetros objetivos de la TMH entre los cuatro grupos subjetivos del menisco. Para evaluar las diferencias de estos parámetros entre cada par de grupos subjetivos se utilizó el test **post-hoc Tukey**.

También se usó este test para evaluar las diferencias de las unidades meibométricas, o cantidad de lípido obtenido con el meibómetro, entre tres grupos de pacientes agrupados según la sintomatología

Prueba-t para una muestra:

Este test estadístico está diseñado para evaluar la diferencia del valor medio de una variable obtenido de forma experimental, con un valor de referencia o teórico. Esta prueba se utilizó para evaluar las diferencias entre los valores de osmolaridad obtenidas con el osmómetro TearLab en muestras de referencias, y el valor de osmolaridad proporcionado por el fabricante.

Prueba-t para muestras independientes:

Se utilizó para evaluar las diferencias de las unidades meibométricas, o cantidad de lípido obtenido con el meibómetro, entre dos grupos de pacientes agrupados según la sintomatología

Prueba-t para muestras relacionadas:

Se utilizó para evaluar las diferencias del valor de osmolaridad TearLab entre dos sesiones separadas por una semana.

También se utilizó para evaluar las diferencias entre los distintos parámetros objetivos que miden la TMH.

4.3.4 Análisis de Bland y Altman

Este análisis está diseñado para evaluar dos características:

- Concordancia entre dos variables que miden el mismo parámetro
- Repetibilidad de los valores de un tests en dos sesiones.

Consiste en comparar la media entre dos variables (2 parámetros distintos para la concordancia, el mismo parámetro en dos momentos distintos para la repetibilidad) frente a la diferencia de los mismos. Se representa en una gráfica donde la media se sitúa en el eje de abscisas y la diferencia en el de ordenadas, de esta forma se obtiene en qué medida se parecen o concuerdan los resultados de las dos variables en todo el rango de medidas estudiado.

Por otra parte se puede evaluar si las diferencias entre ambas variables siguen una tendencia o se mantienen estacionarias en todo el rango de valores estudiado. Para ello se realiza la correlación de la *media frente a la diferencia*, que si resulta significativa indica que las diferencias entre las dos parámetros varían en el sentido que indique la correlación.

Según Bland y Altman²⁰⁹, para que haya una buena concordancia o repetibilidad se debería cumplir:

- Que no haya diferencias estadísticamente significativas entre ambas variables (mediante una prueba-t para muestras relacionadas).

- Que la correlación entre la media y la diferencia sea nula o no significativa, para justificar que las diferencias entre ambas variables sean estacionales a lo largo de la muestra de estudio.

- Que el sesgo entre las dos variables sea pequeña. Esto viene determinado por el **Intervalo del 95% de confianza (IC 95%)**, y se obtiene por medio multiplicar 1,96 por la desviación estándar (DE) de las diferencias (**IC 95% = diferencia media \pm 1,95 DS**). Este intervalo indica las máximas diferencias que se obtienen con un 95% de probabilidad entre dos variables tanto para la concordancia como para la repetibilidad.

Este análisis se utilizó para evaluar la **concordancia entre los distintos parámetros objetivos de la TMH** y para estudiar la **repetibilidad intersesión de los valores de osmolaridad obtenidos con el TearLab**.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS v. 19.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL). La significación se estableció en **$p \leq 0,05$** .



5 RESULTADOS





5.1 ESTUDIO DE LA CAPA LIPÍDICA DE LA PELÍCULA LAGRIMAL

En este bloque se exponen los resultados de la investigación dedicada al estudio de la evaluación de la capa lipídica mediante la categorización de los PLI con el Tearscope-Plus. Se expone en tres apartados:

5.1.1 Repetibilidad intersesión del análisis subjetivo del patrón lipídico interferencial

La evaluación del PLI mediante el Tearscope-Plus, aunque ofrece una técnica útil para evaluar la estructura y calidad de la PL, está afectada por la interpretación subjetiva del observador y por el entrenamiento previo en la categorización de los patrones.¹⁴³ Por lo tanto, en esta primera parte del estudio de la capa lipídica, se determinó el nivel de concordancia entre la evaluación subjetiva de dos observadores experimentados de dos formas:

Análisis intraobservador: evaluación de la repetibilidad individual de cada observador reevaluando las mismas imágenes de los PLI con un intervalo de tiempo de un mes.

Análisis interobservador: comparación entre la categorización de los PLI realizada por dos observadores experimentados.

5.1.1.1 Procedimiento experimental

Este estudio se realizó en 62 sujetos (28 varones y 34 mujeres), con una media de edad de 20.9 ± 1.66 años (rango de edad de 19 a 25 años) provenientes del protocolo general, cuyas características y criterios de exclusión se han descrito anteriormente (**capítulo 4 material y métodos**).

A todos los sujetos se les había examinado la PL mediante el Tearscope-Plus acoplado a la LH para observar el PLI. Asimismo, mediante una cámara se grabó en vídeo cada exploración del PLI. Una vez obtenidos los vídeos se extrajeron las imágenes para su posterior análisis. El protocolo de exploración y los criterios de extracción de las imágenes están ampliamente detallados en el **capítulo 4 material y métodos**.

De los 62 sujetos se obtuvieron un total de 124 imágenes del PLI que fueron categorizadas por dos *observadores* (*Observador 1* y *Observador 2*) con experiencia en la evaluación de los PLIs con el Tearscope-Plus (alrededor de 10 años en esta área). La evaluación se realizó en dos sesiones:

- *En la primera sesión* ambos observadores evaluaron las 124 imágenes del PLI. Cada observador evaluó el set completo de imágenes sin el conocimiento de la categorización realizada por el otro observador. Esta primera parte permite comparar la evaluación **interobservador**.
- *En una segunda sesión*, un mes más tarde, las mismas 124 imágenes fueron renombradas y reordenadas al azar. Esta segunda parte del estudio permite evaluar la variación en el criterio de clasificación a lo largo del tiempo para cada observador, es decir, la evaluación **intraobservador**. A su vez, en esta segunda evaluación, también se volvió a evaluar la variación **interobservador**.

5.1.1.2 Resultados

Debido a la naturaleza categórica de los datos, se utilizó un diseño Chi cuadrado para comparar por parejas los resultados de la categorización de los observadores (proporcionados en porcentajes de concordancia). Para evaluar la repetibilidad intraobservador e interobservador entre las dos sesiones se utilizó el coeficiente Kappa ^{21, 210}, que es una medida estadística de concordancia para variables categóricas. Los valores Kappa se clasifican como sigue: 0.00 (repetibilidad pobre), 0.00–0.20 (repetibilidad leve), 0.21–0.40 (repetibilidad aceptable), 0.41–0.60 (repetibilidad moderada), 0.61–0.80 (repetibilidad sustancial), y mayor que 0.8 (repetibilidad casi perfecta)

5.1.1.2.1 Categorización realizada por el mismo observador entre dos sesiones (análisis intraobservador)

Se encontró una marcada correlación entre la categorización realizada en las dos sesiones para ambos observadores. El *observador 1* mostró un coeficiente Kappa de 0.77 (Tabla 4), indicando una concordancia sustancial en todos los casos (rango de 0,61 a 0,80). Para el observador 2, el coeficiente Kappa fue de 0,81 (Tabla 4), denotando una concordancia casi perfecta (rango de 0,81 a 1). Todas las relaciones fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Tabla 4. Correlación de la categorización de los patrones realizada entre las dos sesiones separadas un mes para cada observador.

	κ	p
Observador 1	0.770	< 0.001
Observador 2	0.812	< 0.001

En la Tabla 5 y la Tabla 6 se muestran los porcentajes de coincidencias entre las categorizaciones realizadas en las dos sesiones para el *observador 1* (Tabla 5) y el *observador 2* (Tabla 6).

Cada línea muestra el porcentaje de PLIs que el *observador* había asignado en la primera sesión, mientras que las columnas indican las clases asignadas a esas mismas imágenes por el mismo *observador* en la segunda sesión.

Para los patrones indicativos de espesores de capa lipídica más gruesos, se encontró una buena concordancia en la evaluación de cada observador entre ambas sesiones. Tal como se puede ver en la Tabla 5 y Tabla 6, ambos observadores mostraron una concordancia casi perfecta consigo mismo cuando categorizaban el patrón *Coloreado* (93,75% para el *Observador 1* y 100% para el *Observador 2*), y una correspondencia fuerte para los patrones *Amorfos* (92,86% para el Observador 1 y 90% para el Observador 2).

Para el patrón marginal (patrón *Fluido*) los resultados son aceptables en ambos casos. Sin embargo, el *Observador 1* alcanzó mayor concordancia consigo mismo que el Observador 2. Mientras que el *Observador 1* sólo había fallado en el 8,70% de los casos, el Observador 2 falló en un porcentaje mayor (20,13% de los casos). Estos errores de clasificación del patrón *Fluido* fueron categorizados como *Marmóreo Abierto* (4,35% y 7,86% error promedio para el *Observador 1* y el *Observador 2*, respectivamente) y *Marmóreo Cerrado* (4,35% y 9,33% error promedio para el *Observador 1* y el *Observador 2*, respectivamente).

Tabla 5. Porcentaje de coincidencias en la categorización realizada por el Observador 1 entre las dos sesiones.

Clasificación Marmóreo abierto	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	93,62%	6,38%	0,00%	0,00%	0,00%	93,62%	6,38%
2° sesión	75,86%	20,69%	3,45%	0,00%	0,00%	75,86%	24,14%
Porcentaje medio	84,74%	13,54%	1,72%	0,00%	0,00%	84,74%	15,26%
Clasificación Marmóreo cerrado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	30,00%	70,00%	0,00%	0,00%	0,00%	70,00%	30,00%
2° sesión	9,09%	84,85%	6,06%	0,00%	0,00%	84,85%	15,15%
Porcentaje medio	19,55%	77,42%	3,03%	0,00%	0,00%	77,42%	22,58%
Clasificación Fluido	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	8,70%	8,70%	82,61%	0,00%	0,00%	82,61%	17,39%
2° sesión	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%
Porcentaje medio	4,35%	4,35%	91,30%	0,00%	0,00%	91,30%	8,70%
Amorfo	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	100,00%	0,00%
2° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	85,71%	14,29%	85,71%	14,29%
Porcentaje medio	0,00%	0,00%	0,00%	92,86%	7,14%	92,86%	7,14%
Coloreado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	12,50%	87,50%	87,50%	12,50%
2° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	0,00%
Porcentaje medio	0,00%	0,00%	0,00%	6,25%	93,75%	93,75%	6,25%

Tabla 6. Porcentaje de coincidencias en la categorización realizada por el Observador 2 entre las dos sesiones

Clasificación Marmóreo abierto	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluído	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	93,33%	0,00%	6,67%	0,00%	0,00%	93,33%	6,67%
2º sesión	91,30%	4,35%	4,35%	0,00%	0,00%	91,30%	8,70%
Porcentaje medio	92,32%	2,17%	5,51%	0,00%	0,00%	92,32%	7,68%
Clasificación Marmóreo cerrado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluído	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	6,06%	81,82%	12,12%	0,00%	0,00%	81,82%	18,18%
2º sesión	0,00%	87,10%	6,45%	6,45%	0,00%	87,10%	12,90%
Porcentaje medio	3,03%	84,46%	9,29%	3,23%	0,00%	84,46%	15,54%
Clasificación Fluído	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluído	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	6,90%	6,90%	86,21%	0,00%	0,00%	86,21%	13,79%
2º sesión	8,82%	11,76%	73,53%	5,88%	0,00%	73,53%	26,47%
Porcentaje medio	7,86%	9,33%	79,87%	2,94%	0,00%	79,87%	20,13%
Amorfo	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluído	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	0,00%	20,00%	20,00%	60,00%	0,00%	60,00%	40,00%
2º sesión	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	100,00%	0,00%
Porcentaje medio	0,00%	10,00%	10,00%	80,00%	0,00%	80,00%	20,00%
Coloreado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluído	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	0,00%	20,00%	20,00%	60,00%	0,00%	60,00%	40,00%
2º sesión	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	100,00%	0,00%
Porcentaje medio	0,00%	10,00%	10,00%	80,00%	0,00%	80,00%	20,00%

Por el contrario, ambos observadores mostraron errores sustanciales en la clasificación de los patrones más delgados (marmóreos abierto y cerrado). El *Observador 1* presentó más errores para clasificar el patrón *Marmóreo Abierto* que el *Observador 2*. El *Observador 1* falló en clasificar el patrón *Marmóreo Abierto* en el 15,26% de los casos y *Marmóreo Cerrado* en el 22,58% de las fotografías. Para el *Observador 2*, los errores en clasificar el patrón *Marmóreo Abierto* mostraron un porcentaje del 7,68%, mientras que para el patrón *Marmóreo Cerrado* el porcentaje de error fue de 15,54% de las imágenes. Si se examinan los errores obtenidos para el patrón *Marmóreo Cerrado*, el sesgo obtenido mostró una tendencia distinta

dependiendo de cada observador. Así, el *Observador 1* clasificó erróneamente el patrón *Marmóreo Cerrado* como *Fluido* en sólo un 3,03% de los casos, mientras que el 19,55% de los patrones *Marmóreo Cerrado* los confundió con el patrón *Marmóreo Abierto*. Por otra parte, el *Observador 2* confundió el patrón *Marmóreo Cerrado* con el *Marmóreo Abierto* en sólo un porcentaje del 3,03%, mientras que mostró una mayor tendencia a identificar erróneamente el patrón *Marmóreo Cerrado* como *Fluido* (9,29% de los casos).

5.1.1.2 Comparación entre la categorización entre los dos observadores (análisis interobservador)

Cuando se comparó la categorización del PLI entre los dos observadores se encontró una correlación aceptable entre ambas clasificaciones. El coeficiente de Kappa resultó ser 0,61 y 0,63 para la primera y segunda sesión, respectivamente (Tabla 7). Estos resultados indican una correlación sustancial en todos los casos. Ambas correlaciones fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Tabla 7. Correlación entre la categorización de los patrones realizada por los dos observadores. Se compararon los resultados entre ellos tanto en la primera sesión como en la segunda.

Comparación entre observadores	Sesión	κ	P
Observador 1 - Observador 2	Primera sesión	0,615	< 0,001
Observador 2 - Observador 2	Segunda sesión	0,633	< 0,001

En la Tabla 8 y Tabla 9 se indica el porcentaje de coincidencias entre la clasificación realizada por el *Observador 1* y el *Observador 2* en cada sesión.

Cada línea muestra el porcentaje de PLIs que el un *observador* asigna a cada clase, mientras que las columnas indican las clases asignadas a esas mismas imágenes por el otro *observador* al que se está comparando.

La Tabla 8 indica la concordancia entre ambos observadores en la primera sesión, mientras que la Tabla 9 proporciona los mismos datos para la segunda sesión. El porcentaje de concordancia obtenido depende del tipo de patrón examinado. En general, se puede ver que la concordancia total era peor que el obtenido en la comparación intraobservador (Tabla 5 y Tabla 6). La mejor concordancia encontrada entre ambos observadores fue para los patrones *Marmóreo Abierto* y *Coloreado*, mostrando un alto porcentaje de coincidencia entre ambos para el patrón *Coloreado* (85,71% en la sesión 1 y 93,75% en la sesión 2) y el patrón *Marmóreo Abierto* (87,71% para la sesión 1 y 80,47% para la sesión 2).

El patrón *Marmóreo Cerrado* (65,69% en la sesión 1 y 66,36% en la sesión 2) y el patrón *Fluido* (65,63% en la sesión 1 y 74,06% en la sesión 2) ofrecieron menor concordancia que la obtenida en la comparación intraobservador (Tabla 5 y Tabla 6).

Los errores obtenidos fueron principalmente entre categorías adyacentes. Para el patrón *Marmóreo Cerrado*, los errores de interpretación más frecuentes fueron con los patrones *Marmóreo Abierto* y *Fluido*. De esta forma, en la primera sesión, un 9,58% de las imágenes fueron incorrectamente clasificadas como *Marmóreo Abierto*, mientras que un porcentaje de 19,99% fue malinterpretado como patrón *Fluido*. En la segunda sesión, un 16,33% y un 12,05% de las imágenes fueron erróneamente categorizadas como patrón *Marmóreo Abierto* y *Fluido*, respectivamente.

Tabla 8. Comparación de la categorización de los patrones entre el Observador 1 y el Observador 2 en la primera sesión.

Clasificación Marmóreo abierto	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	97,83%	2,17%	0,00%	0,00%	0,00%	97,83%	2,17%
2º sesión	77,59%	8,62%	10,34%	3,45%	0,00%	77,59%	22,41%
Porcentaje medio	87,71%	5,40%	5,17%	1,72%	0,00%	87,71%	12,29%
Clasificación Marmóreo cerrado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	16,13%	67,74%	9,68%	6,45%	0,00%	67,74%	32,26%
2º sesión	3,03%	63,64%	30,30%	3,03%	0,00%	63,64%	36,36%
Porcentaje medio	9,58%	65,69%	19,99%	4,74%	0,00%	65,69%	34,31%
Clasificación Fluido	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	17,65%	29,41%	47,06%	5,88%	0,00%	47,06%	52,94%
2º sesión	0,00%	15,79%	84,21%	0,00%	0,00%	84,21%	15,79%
Porcentaje medio	8,82%	22,60%	65,63%	2,94%	0,00%	65,63%	34,37%
Amorfo	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	33,33%	16,67%	0,00%	33,33%	16,67%	33,33%	66,67%
2º sesión	0,00%	28,57%	28,57%	28,57%	14,29%	28,57%	71,43%
Porcentaje medio	16,67%	22,62%	14,29%	30,95%	15,48%	30,95%	69,05%
Coloreado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1º sesión	0,00%	0,00%	0,00%	14,29%	85,71%	85,71%	14,29%
2º sesión	0,00%	0,00%	0,00%	14,29%	85,71%	85,71%	14,29%
Porcentaje medio	0,00%	0,00%	0,00%	14,29%	85,71%	85,71%	14,29%

Para el patrón *Fluido*, los principales errores de interpretación fueron con los patrones *Marmóreo Abierto* y cerrado, donde, en la primera sesión, el porcentaje de errores con el patrón *Marmóreo Abierto* fue de 8,82% y el error con el patrón *Marmóreo Cerrado* alcanzó un nivel del 22,60%. En la segunda sesión los errores de interpretación fueron de un 7,35% y un 16,87% para el patrón *Marmóreo Abierto* y cerrado, respectivamente.

Finalmente, la menor concordancia entre observadores se encontró para la categorización del patrón *Amorfo*. La concordancia entre ellos tan sólo fue de un 30,95% en la primera sesión y de un 53,33% en la segunda. Los errores de

interpretación variaron entre todas las categorías; en la primera sesión, un 16,67% fue mal interpretado como *Marmóreo Abierto*, un 22,62% como *Marmóreo Cerrado*, un 14,29% como *Fluido* y un 15,48% como patrón *Coloreado*; mientras que en la segunda sesión un 10,00% del patrón *Amorfo* fue erróneamente categorizado como *Marmóreo Abierto*, un 23,33% como *Marmóreo Cerrado*, un 8,33% como *Fluido* y un 5,00% como patrón *Coloreado*).

Tabla 9. Comparación de la categorización de los patrones entre el Observador 1 y el Observador 2 en la segunda sesión.

Clasificación Marmóreo abierto	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	82,22%	15,56%	2,22%	0,00%	0,00%	82,22%	17,78%
2° sesión	78,72%	10,64%	6,38%	4,26%	0,00%	78,72%	21,28%
Porcentaje medio	80,47%	13,10%	4,30%	2,13%	0,00%	80,47%	19,53%
Clasificación Marmóreo cerrado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	15,15%	72,73%	9,09%	3,03%	0,00%	72,73%	27,27%
2° sesión	17,50%	60,00%	15,00%	7,50%	0,00%	60,00%	40,00%
Porcentaje medio	16,33%	66,36%	12,05%	5,27%	0,00%	66,36%	33,64%
Clasificación Fluido	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	10,34%	20,69%	65,52%	3,45%	0,00%	65,52%	34,48%
2° sesión	4,35%	13,04%	82,61%	0,00%	0,00%	82,61%	17,39%
Porcentaje medio	7,35%	16,87%	74,06%	1,72%	0,00%	74,06%	25,94%
Amorfo	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	20,00%	30,00%	0,00%	40,00%	10,00%	40,00%	60,00%
2° sesión	0,00%	16,67%	16,67%	66,67%	0,00%	66,67%	33,33%
Porcentaje medio	10,00%	23,33%	8,33%	53,33%	5,00%	53,33%	46,67%
Coloreado	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado	Categorización correcta	Error total
1° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	100,00%	0,00%
2° sesión	0,00%	0,00%	0,00%	12,50%	87,50%	87,50%	12,50%
Porcentaje medio	0,00%	0,00%	0,00%	6,25%	93,75%	93,75%	6,25%

5.1.2 Nueva aplicación informática para el análisis objetivo del patrón lipídico interferencial.

Como se ha comprobado, existe una variabilidad entre los observadores para categorizar correctamente el PLI, y esta variabilidad depende del tipo de patrón estudiado. Dada la influencia subjetiva de esta técnica, así como la dificultad en categorizar el PLI, es necesario encontrar herramientas para realizar esta prueba más objetiva. Por lo tanto, en esta parte de la tesis se ha diseñado una aplicación informática para analizar objetivamente el tipo de PLI.

El objetivo de este estudio es validar esta nueva aplicación que analiza el tipo de PLI basado en análisis de estructura y color mediante dos análisis:

- Para introducir esta nueva técnica, se ha adoptado un análisis del PLI propuesto por Korb⁸, que está más dirigido a la interpretación clínica y está basado en la clasificación de Guillon como;
 1. Capa lipídica delgada (patrón *Marmóreo*)
 2. Capa lipídica promedio (patrón *Fluido*)
 3. Capa lipídica gruesa (patrón *Coloreado*)
- En una segunda aproximación, se han analizado por separado los patrones *marmóreo abierto* y *Marmóreo Cerrado*, ya que normalmente el límite entre ojo control y ojo seco se distingue por el tipo de patrón marmóreo.⁴⁴

5.1.2.1 Procedimiento experimental

Este estudio se realizó en 78 sujetos (35 varones y 43 mujeres), con una media de edad de 20.9 ± 1.66 años (rango de edad de 19 a 33 años) provenientes del protocolo general, cuyas características y criterios de exclusión se han descrito anteriormente (**capítulo 4 material y métodos**).

A todos los sujetos se les había examinado la PL mediante el Tearscope-Plus acoplado a la LH para observar el PLI. Asimismo, mediante una cámara se grabó en vídeo cada exploración del PLI. Una vez obtenidos los vídeos se extrajeron las imágenes para su posterior análisis. El protocolo de exploración y los criterios de extracción de las imágenes están ampliamente detallados en el **capítulo 4 material y métodos**.

De los 78 sujetos se obtuvieron un total de 120 imágenes válidas para realizar el estudio. El protocolo de exploración y los criterios de extracción de las imágenes están ampliamente detallado en **capítulo 4 material y métodos**.

Para evitar la influencia del entrenamiento de los observadores en los resultados de la *nueva aplicación* informática, en este estudio se necesitó de la colaboración de tres observadores con distinta experiencia en la categorización de los PLIs:

- Un observador de referencia, denominado **observador referente**, que era el más experimentado en la evaluación de los patrones lipídicos y fue el encargado de catalogar el tipo de patrón de cada imagen para validar la clasificación de la nueva aplicación.
- Otros dos observadores (**observador 1** y **observador 2**), de similar experiencia en la categorización de los patrones, encargados de evaluar las imágenes para validar si el grado de concordancia de la aplicación objetiva con ambos observadores es similar a la concordancia entre los observadores subjetivos.

Todas las imágenes fueron categorizadas por el examinador de referencia de forma duplicada y en orden aleatorio. Tan sólo aquellas imágenes categorizadas con el mismo patrón en las dos evaluaciones fueron incluidas en el estudio. **Esto proporcionó un total de 105 imágenes válidas para el estudio.**

5.1.2.1.1 Descripción de la nueva aplicación objetiva para la evaluación de los patrones.

La nueva aplicación objetiva utiliza una metodología que consiste en tres pasos: 1) extracción de la región de interés que va a ser evaluada, 2) análisis de la textura y 3) clasificación de la imagen en diferentes categorías.

Extracción de la región de interés

La imagen extraída, tal como se describe en la **Figura 48A**, contiene varias regiones que no son útiles para el análisis de la textura. Esto supone la necesidad de procesamiento previo para extraer la región de la capa lipídica que va a ser evaluada.

La técnica de adquisición utilizada genera un área central en la imagen que está más iluminada que el resto de la imagen. Por tanto, para obtener la región de interés el análisis se restringe al área más brillante transformando la imagen al espacio de color $L^*a^*b^*$ y sólo se analiza la componente de luminancia (L). **Figura 48B** muestra la región de interés donde se realiza el análisis de textura. Tal como recomienda Korb, se escoge la zona más inferior, ya que en caso de mostrar un patrón heterogéneo ésta es la zona más representativa.

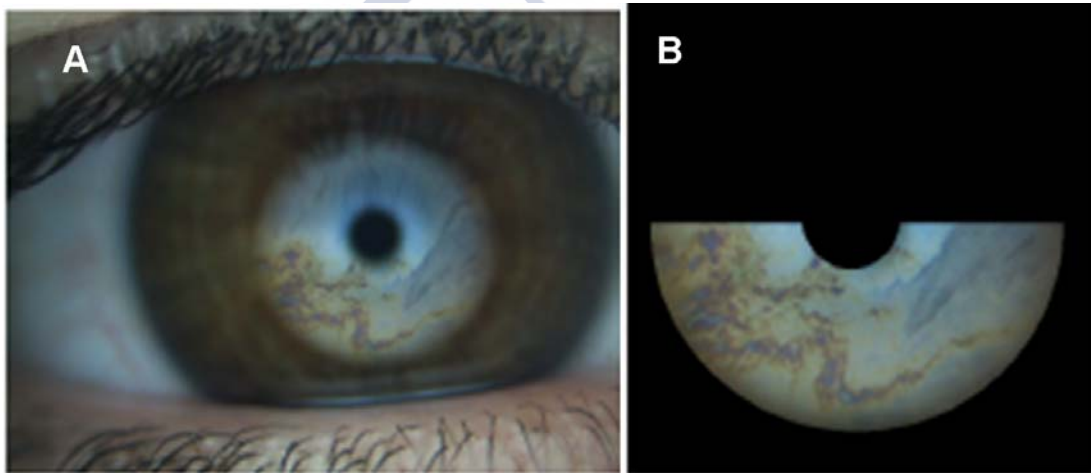


Figura 48. A) Ejemplo de una imagen original correspondiente a un PLI coloreado. B) Región de interés seleccionada por la aplicación informática.

Análisis de textura

Las características de la textura se extraen aplicando un conjunto de filtros a la imagen y calculando la energía de las respuestas de filtro. Específicamente, se utiliza un conjunto de filtros rotacionalmente invariable. Uno de los filtros más ampliamente utilizados para extraer rasgos de texturas es la diferencia de Gaussianas. De este modo, para determinar la diferencia entre dos imágenes, el uso de diferentes Kernels Gaussianos destaca las características de la imagen en varios rangos de escala.

La PL se puede clasificar en cinco categorías diferentes según el espesor de la capa lipídica, lo que determina sus rasgos de texturas. En la medida que cada PLI es diferente, mostrarán mayor respuesta distintas bandas de frecuencia. De este modo, se ha utilizado un amplio rango de frecuencias para cubrir todo el espectro de interés.

Algunos de los patrones contienen características de color. Por esta razón se ha incluido información del color en el análisis de textura aplicando la teoría de colores opuestos¹⁴.

Análisis del color: colores opuestos

Un campo receptivo es un conjunto de fotorreceptores de la retina que determina el comportamiento de una célula en el sistema visual. El sistema visual contiene diferentes clases de fotorreceptores provocando que las células muestren antagonismo cromático.

Las células oponentes se excitan (o inhiben) en respuesta a un tipo de fotorreceptores en el campo central y son inhibidas (o excitadas) en respuesta a diferentes tipos de fotorreceptores en el campo circundante.

La existencia de estos campos receptores fue descrita por Hering¹⁴ como pares de colores que no se pueden apreciar juntos en el mismo tiempo y localización. Estos pares de colores son: rojo versus verde, verde versus rojo y azul versus amarillo. Para aplicar la teoría del color oponente al procesamiento de imágenes los tres canales se definieron como:

$$\begin{aligned}RG &= R - p X G \\GR &= G - p X R \\BY &= B - p X (R + G)\end{aligned}$$

Donde p es un filtro de pasa baja. Para analizar la textura en el espacio de colores opuestos, cada canal se analizó de forma separada. El descriptor final de una imagen es la concatenación de los descriptores RG , GR y BY .

Clasificación.

La técnica utilizada para el paso de clasificación fue el algoritmo de los ***K- vecinos más cercanos***, el cual, a pesar de ser una herramienta básica de aprendizaje de algoritmo, se utiliza mucho en reconocimiento de patrones y produce buenos resultados. En este estudio, se ha utilizado una aproximación de $k = 1$ como el vecino más próximo y la distancia Euclidiana como la unidad de medición. La posibilidad de generalizar estos resultados a un set de datos mayor fue evaluada mediante una validación cruzada usando k grupos¹⁵. Esta técnica se utiliza ampliamente en Inteligencia Artificial para validar un modelo. En este estudio se ha utilizado una validación cruzada usando 6 grupos, lo que indica que los datos originales fueron divididos en 6 subgrupos de forma randomizada, donde 5 de esos subdatos se utilizaron como entrenamiento y los datos restantes fueron utilizados como datos de validación del modelo. El proceso de validación cruzado se repitió 6 veces, donde cada uno de los 6 subgrupos se utilizó únicamente una vez como valoración. Los 6 resultados de los grupos fueron promediados para generar una única estimación. La ventaja de este método de repetir los subgrupos de forma aleatoria es que todas las observaciones se pueden utilizar para entrenamiento y valoración, donde cada observación se utiliza sólo una vez para la validación.

5.1.2.1.2 Validación de la técnica.

Las 105 imágenes del PLI categorizadas por el *examinador de referencia*, fueron evaluadas por los otros dos observadores (*observador 1* y *observador 2*) y por la *aplicación objetiva*. Para garantizar un estudio ciego, las imágenes fueron presentadas a cada observador de forma aleatoria. Una vez realizada la clasificación se procedió a comparar la categorización de los patrones entre la nueva aplicación informática y el examinador referente. Posteriormente se hizo otra comparación entre el la nueva aplicación, el *Observador 1* y el *Observador 2* para evaluar si la nueva aplicación tiene el comportamiento que un observador al realizar esta prueba.

5.1.2.2 Resultados

Debido a la naturaleza categórica de los datos, se utilizó un diseño Chi cuadrado para comparar por pares los resultados del examinador referente, la nueva aplicación objetiva y los dos observadores 1 y 2. Para ello se utilizó el test V de Cramer. El análisis de los datos se abordó de dos formas:

- **Evaluación de la precisión:** para lo que se comparó la categorización de los patrones realizado por la nueva aplicación y los observadores 1 y 2 con la categorización realizada por el examinador referente.
- **Evaluación de la similitud entre los observadores:** en esta ocasión se realizó una comparación por pares entre el observador 1, observador 2 y la nueva aplicación informática. En esta ocasión no se tuvo en cuenta las valoraciones del examinador de referencia.

5.1.2.2.1 Clasificación clínica de Korb

Comparación con el examinador de referencia

En primer lugar se compararon los resultados de la categorización del *observador de referencia* con los tres observadores restantes (*nueva aplicación, observador 1 y observador 2*). Los resultados mostraron una fuerte correlación de la nueva aplicación (Cramer V = 0,93, r = 0,95; P < 0,001), el *observador 1* (Cramer V = 0.93, r = 0.91; P < 0.001) y el *observador 2* (Cramer V = 0.85, r = 0.84; P < 0.001) con el *observador de referencia*.

Las tablas 10 a 12 muestran los porcentajes de imágenes que la *nueva aplicación, el observador 1 y el observador 2* clasificaron como el *examinador de referencia*. La Tabla 10 proporciona los emparejamientos registrados entre la *nueva aplicación* y cada uno de los observadores subjetivos para las imágenes categorizadas como marmóreo, mientras que la Tabla 11 y Tabla 12 muestran los mismos resultados pero para el patrón *Fluido y Coloreado*, respectivamente. En todas las tablas la tercera columna con el encabezamiento "*categorización correcta*" se refiere al porcentaje de imágenes clasificadas de la misma forma que el examinador de referencia. Por el contrario, la columna con la etiqueta "*categorización incorrecta*" indica la suma del porcentaje de imágenes de las clasificaciones que no coincidieron con la categorización del examinador de referencia.

Tabla 10. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el *software (nueva aplicación)*, el *observador 1* y el *observador 2* con el *examinador referente* cuando clasifican el patrón Marmóreo.

	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Software	96,6	3,4	0	96,6	3,4
Observador 1	91,4	5,2	3,4	91,4	8,6
Observador 2	81	15,5	3,4	81	18,9

Tabla 11. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el *software (nueva aplicación)*, el *observador 1* y el *observador 2* con el *examinador referente* cuando clasifican el patrón Fluido.

	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Software	8	92	0	92	8
Observador 1	0	100	0	100	0
Observador 2	4	96	0	96	4

Tabla 12. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el *software (nueva aplicación)*, el *observador 1* y el *observador 2* con el *examinador referente* cuando clasifican el patrón Coloreado.

	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Software	0	4,5	95,5	95,5	4,5
Observador 1	0	0	100	100	0
Observador 2	0	0	100	100	0

Como se muestra en la Tabla 10, para los patrones más delgados, la concordancia con el examinador de referencia fue mayor con la *nueva aplicación*, mientras que ambos observadores subjetivos mostraron mejor concordancia con el examinador de referencia cuando se examinaban patrones más gruesos (Tabla 11). De todas formas, se puede decir que la *nueva aplicación* y ambos observadores mostraron una buena concordancia con respecto al observador de referencia, con un porcentaje mínimo de coincidencia del 81%.

Comparación entre la aplicación informática, observador 1 y observador 2

Cuando se compararon los resultados entre la *aplicación informática* y el *observador 1* se encontró una correlación fuerte entre ellos (Cramer V = 0.86, r = 0.87; P < 0.001), así como entre la aplicación informática y el observador 2 (Cramer V = 0.81, r = 0.81; P < 0.001), y entre ambos observadores subjetivos (Cramer V = 0.87, r = 0.87; P < 0.001)

El porcentaje de similitud entre las clasificaciones de patrones realizadas por la *aplicación informática*, el *observador 1* y el *observador 2* se calculó sin considerar el *observador de referencia*. En las tablas 13, 14 y 15 se muestran las comparaciones entre la *aplicación informática* y el *observador 1*, la *aplicación informática* y el *observador 2* y entre el *observador 1* y *2*, respectivamente. Cada línea muestra el porcentaje de PLIs que el *observador* o *software* asigna a cada clase, mientras que las columnas indican las clases asignadas a esas mismas imágenes por el *observador* o *software* al que se está comparando.

Tabla 13. Porcentaje de coincidencias entre el *software* y el *observador 1* para cada clasificación.

Clasificación	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo					
Software	96,2	3,8	0	96,2	3,8
Observador 1	87,9	8,6	3,4	87,9	12
Mean matches	92,05	6,2	1,7	87	7,9
Fluido					
Software	17,9	82,1	0	82,1	17,9
Observador 1	7,7	88,5	3,8	88,5	11,5
Coincidencias promedio	12,8	85,3	1,9	85,3	14,7
Coloreado					
Software	8,3	4,2	87,5	87,5	12,5
Observador 1	0	0	100	100	0
Coincidencias promedio	4,15	2,1	93,75	93,75	6,25



Tabla 14. Porcentaje de coincidencias entre el *software* y el *observador 2* para cada clasificación

Clasificación	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo					
Software	95,8	4,2	0	95,8	4,2
Observador 2	79,3	17,2	3,4	79,3	3,8
Coincidencias promedio	87,55	10,7	1,7	87,55	4
Fluido					
Software	30,3	69,7	0	69,7	30,3
Observador 2	7,7	88,5	3,8	88,5	11,5
Coincidencias promedio	19	79,1	19	79,1	20,9
Coloreado					
Software	8,3	4,2	87,5	87,5	12,5
Observador 2	0	0	100	100	0
Coincidencias promedio	4,15	2,1	93,75	93,75	6,25

Tabla 15. Porcentaje de coincidencias entre el *observador 1* y el *observador 2* para cada clasificación

Clasificación	Marmóreo	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo					
Observador 1	93,8	6,3	0	93,8	6,3
Observador 2	84,9	15,1	0	84,9	15,1
Coincidencias promedio	89,35	10,7	0	89,35	10,7
Fluido					
Observador 1	24,2	75,8	0	88,5	11,5
Observador 2	10,7	89,3	0	82,1	17,9
Coincidencias promedio	17,45	82,55	0	82,55	17,45
Coloreado					
Observador 1	0	0	100	100	0
Observador 2	0	0	100	100	0
Coincidencias promedio	0	0	100	100	0

Si se consideran todas las clasificaciones realizadas en global, se puede afirmar que la aplicación informática mostró la mejor concordancia con los *observadores 1* y *2* para los patrones marmóreos, con un porcentaje de coincidencias del 96,2% entre la aplicación informática y el *observador 1* (Tabla 13) y un 95,8% de coincidencias entre la *nueva aplicación* y el *observador 2* (Tabla 14). Por otra parte, los *observadores 1* y *2* mostraron la mejor concordancia entre ellos cuando interpretaban patrones *Coloreados*, con un 100% de coincidencias (Tabla 15).

5.1.2.2.2 Estudio de los patrones Marmóreo Abierto y Marmóreo Cerrado

En este apartado se evaluó la concordancia entre los distintos observadores clasificando el patrón marmóreo como abierto (**Figura 19A**) o cerrado (**Figura 19B**).

Comparación con el examinador de referencia

En general, los resultados mostraron una correlación fuerte entre las categorizaciones del examinador de referencia con la *aplicación informática* (Cramer $V = 0,9$, $r = 0,94$; $P < 0,001$), el *observador 1* (Cramer $V = 0,8$, $r = 0,87$; $P < 0,001$) y el *observador 2* (Cramer $V = 0,82$, $r = 0,9$; $P < 0,001$). La *aplicación informática* fue la que mejor se correlacionó con el *examinador de referencia* a la hora de distinguir los patrones marmóreos abierto y cerrado. En la Tabla 16 y Tabla 17 se indican los porcentajes de coincidencias entre las imágenes clasificadas por el examinador de referencia y las clasificadas por la *aplicación informática*, el *observador 1* y el

observador 2. La Tabla 16 indica los porcentajes de coincidencia para el patrón *Marmóreo Abierto* y la Tabla 17 para el patrón *Marmóreo Cerrado*.

Tabla 16. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el software (nueva aplicación), el observador 1 y el observador 2 con el examinador referente cuando clasifican el patrón *Marmóreo Abierto*.

	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Software	86,2	6,9	6,9	0	86,2	13,8
Observador 1	37,9	51,7	10,3	0	37,9	62
Observador 2	86,2	10,3	3,4	0	86,2	13,7

Tabla 17. Porcentaje de coincidencias obtenidas entre el software (nueva aplicación), el observador 1 y el observador 2 con el examinador referente cuando clasifican el patrón *Marmóreo Cerrado*.

	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Software	3,4	96,6	0	0	96,6	3,4
Observador 1	3,4	89,7	0	6,9	89,7	10,3
Observador 2	3,4	62,1	27,6	6,9	62,1	37,9

Como se puede apreciar en las dos tablas, solamente la aplicación informática mostró una buena correspondencia con el examinador de referencia, tanto para el patrón *Marmóreo Abierto* (86,2% de emparejamientos correctos) como para el patrón *Marmóreo Cerrado* (96,6% de emparejamientos correctos). El *observador 1* clasificó incorrectamente el patrón *Marmóreo Abierto* en un 37,9% de los casos, mientras que el *observador 2* clasificó incorrectamente un 62,1% de los patrones *Marmóreo Cerrado*. Claramente, se puede decir que la aplicación informática es mejor que los observadores subjetivos para distinguir entre el patrón *Marmóreo Abierto* y cerrado. De esta forma, se encontró que la aplicación informática, clasificó incorrectamente el patrón *Marmóreo Abierto* como *Fluido* sólo en un 6,9% de los casos. Para el patrón *Marmóreo Cerrado*, la aplicación clasificó erróneamente como *Marmóreo Abierto* sólo en un 3,4%. Por el contrario, el *observador 1* mostró un mayor porcentaje de errores al clasificar el patrón *Marmóreo Abierto* como *Fluido* (10,3%), mientras que el *observador 2* mostró un porcentaje de errores de clasificación similares a la aplicación informática. Sin embargo, cuando se clasificaba el patrón *Marmóreo Cerrado*, ambos *observadores 1* y *2* llegaron incluso a clasificar el patrón *Marmóreo Cerrado* como *Coloreado*, (6,9% de los casos para ambos observadores), indicando una sobrestimación de dos niveles del patrón.

Comparación entre la aplicación informática, observador 1 y observador 2

Cuando se compararon las categorizaciones de los patrones entre estos tres observadores, se encontró una correlación moderada entre la *aplicación informática* y el *observador 1* (Cramer V = 0,76, r = 0,85; P < 0,001), la *aplicación informática* y el *observador 2* (Cramer V = 0,76, r = 0,84; P < 0,001) y entre los *observadores 1* y *2* (Cramer V = 0,72, r = 0,85; P < 0,001).

En las tablas 18, 19 y 20 se indican las comparaciones entre la aplicación informática y el *observador 1*, la aplicación informática y el *observador 2*, y entre el *observador 1* y *2*, respectivamente.

La aplicación informática mostró una buena concordancia con el *observador 1* cuando se categorizaba el patrón *Marmóreo Abierto* (91,7%), pero fue peor cuando se evaluó el patrón *Marmóreo Cerrado* (65,9%, Tabla 18). Cuando se comparó la aplicación informática con el *observador 2*, se encontró un porcentaje de coincidencias del 77,8% para el patrón *Marmóreo Abierto* y un 85,7% para el patrón *Marmóreo Cerrado* (Tabla 19).

Al comparar los dos observadores subjetivos, el porcentaje de concordancia dependía del tipo de patrón examinado. Así, el *observador 1* mostró una buena concordancia con el *observador 2* (100 % de las coincidencias) cuando se categorizaba el patrón *Marmóreo Cerrado*, siendo peor la concordancia cuando analizaba el patrón *Marmóreo Abierto* (40,7% de coincidencias; Tabla 20). Por el contrario, ambos observadores evaluaron de forma similar el patrón *Marmóreo Abierto* (91,7%), mostrando peor concordancia cuando se evaluaba el patrón *Marmóreo Cerrado* (51,2%) (Tabla 20).

Tabla 18. Porcentaje de coincidencias entre el software y el observador 1 cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.

Clasificación	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo abierto						
Software	91,7	0	8,3	0	91,7	8,3
Observador 1	42,3	50	7,7	0	42,3	57,7
Coincidencias promedio	67	25	8	0	67	33
Marmóreo cerrado						
Software	31,7	65,9	2,4	0	65,9	34,1
Observador 1	0	84,4	9,4	0	84,4	9,4
Coincidencias promedio	15,85	75,15	5,9	0	75,15	21,75

Tabla 19. Porcentaje de coincidencias entre el software y el observador 2 cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.

Clasificación	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo abierto						
Software	77,8	14,8	7,4	0	77,8	22,2
Observador 2	80,8	11,5	7,7	0	80,8	19,2
Coincidencias promedio	79,3	13,15	7,55	0	79,3	20,7
Marmóreo cerrado						
Software	14,3	85,7	0	0	85,7	14,3
Observador 2	12,5	56,3	25	6,2	56,3	43,7
Coincidencias promedio	13,4	71	12,5	3,1	71	29

Tabla 20. Porcentaje de coincidencias entre el software y el observador 2 cuando evalúa el Marmóreo abierto y el Marmóreo cerrado.

Clasificación	Marmóreo abierto	Marmóreo cerrado	Fluido	Coloreado	Categorización correcta	Categorización incorrecta
Marmóreo abierto						
Observador 1	40,7	48,1	11,1	0	40,7	59,2
Observador 2	91,7	0	8,3	0	91,7	8,3
Coincidencias promedio	66,2	24,05	9,7	0	66,2	33,75
Marmóreo cerrado						
Observador 1	0	100	0	0	100	0
Observador 2	31,7	51,2	17,1	0	51,2	24,4
Coincidencias promedio	15,85	75,6	8,55	0	75,6	12,2

En resumen, estos resultados indican una buena correspondencia entre los *observadores* y la *aplicación informática*, siendo ésta mejor entre la *aplicación informática* y *ambos observadores* subjetivos (especialmente entre la *nueva aplicación* y el *observador 2*) que cuando se comparan los observadores subjetivos entre sí.

5.1.3 Nueva aplicación web que incluye: (1) base de datos de imágenes de patrones lipídicos interferenciales (2) análisis objetivo del patrón lipídico interferencial por zonas.

Aunque el Tearscope es un test muy útil para la evaluación de la estructura de la película lagrimal, todavía se necesitan estudiar varios aspectos técnicos para mejorar su rendimiento. En primer lugar, la categorización es muy difícil y requiere mucho entrenamiento, por lo que es necesario disponer de un banco de imágenes de patrones lipídicos interferenciales junto con una detallada descripción de cada patrón. Esto puede ayudar al observador a distinguir entre dos tipos de patrones muy similares. En segundo lugar, los patrones lipídicos interferenciales no son siempre homogéneos, por lo que en muchos pacientes se puede presentar una combinación de varios patrones. Es muy común encontrar que la capa lipídica es más gruesa en la zona inferior y más delgada en la zona superior del área corneal.⁴⁶ Por lo tanto, existen ocasiones en que el PLI se categoriza como una combinación de patrones (indicando una distribución heterogénea del espesor de la capa lipídica).⁴⁴

Para abordar estos aspectos del análisis del PLI, se ha desarrollado una nueva herramienta denominada **iDEAS (Dry Eye Assessment System)**, tal que el clínico puede identificar y luego marcar de forma manual las distintas regiones en una misma imagen. Por lo tanto, con esta herramienta se puede categorizar el PLI por zonas, permitiendo evaluar el grado de heterogeneidad del patrón.

Este estudio está orientado a optimizar el análisis del PLI. Para ello, se presenta un amplio banco de datos de imágenes para los profesionales de la visión con el objetivo de consultar las características de los distintos patrones. Esta base de datos de imágenes está incluida en la nueva herramienta web iDEAS, que presenta tres funciones principales: el almacenamiento de las imágenes del PLI ordenadas por paciente, el tamaño del PLI o región de interés y el tipo de iluminación. También incluye una herramienta para marcar las distintas zonas de patrones en una imagen que permita al clínico seleccionar la zona o zonas exactas que definan un PLI específico, y finalmente presenta la aplicación informática para categorizar automáticamente los PLIs. Por lo tanto, el propósito de este estudio es:

1. Describir la base de datos web de imágenes del PLI (específico del sistema de iluminación Tearscope), junto con las descripciones detalladas del criterio utilizado por los observadores para clasificar cada tipo de PLI. Todo ello correspondiendo a varios sets de imágenes categorizados de forma similar por 4 observadores expertos.
2. Validar, en una primera aproximación, el rendimiento de la aplicación informática para categorizar distintas zonas de los PLIs presentes en una imagen. Esta mejora de la aplicación informática supone un avance en la metodología que permite la evaluación automática de la heterogeneidad del patrón.

5.1.3.1 Procedimiento experimental

Para este estudio se examinó el PLI con el Tearscope-Plus acoplada a una lámpara de hendidura en un total de 78 sujetos de edades comprendidas entre 19 y 33 años. A todos ellos se les grabó el PLI en vídeo y se extrajeron las imágenes para su posterior análisis, obteniendo un total de 110 imágenes. El protocolo de exploración y los criterios de extracción de las imágenes están ampliamente detallado en el **capítulo 4 material y métodos**.

Todas las imágenes se subieron a la base de datos incluida en el software iDEAS para la clasificación de las mismas. En una primera fase se pidió a los 4 observadores experimentados que evaluaran los PLIs de estas imágenes, y aquellas que eran más difíciles de clasificar (debido a que los observadores no se decantaban por tipo de patrón entre dos categorizaciones adyacentes) se descartaron para el estudio, **resultando en un total de 50 imágenes.**

5.1.3.1.1 Clasificación de patrones. Concordancia entre cuatro observadores experimentados.

Se pidió a cuatro observadores experimentados en la clasificación de patrones categorizar los PLIs que se encuentran en 50 imágenes seleccionadas tal como se describe en el **capítulo 4 material y métodos**. En cada imagen, cada observador marcó las zonas de PLI de interés utilizando la herramienta de marcado de iDEAS (**Figura 49A**). A continuación, utilizando el programa iDEAS se extrajeron las zonas para las cuales había concordancia entre los 4 observadores (**Figura 49B**). Estas áreas en concordancia fueron catalogados como "imágenes correctas" y se incluyen en la base de datos creada para guiar en la categorización de PLI.

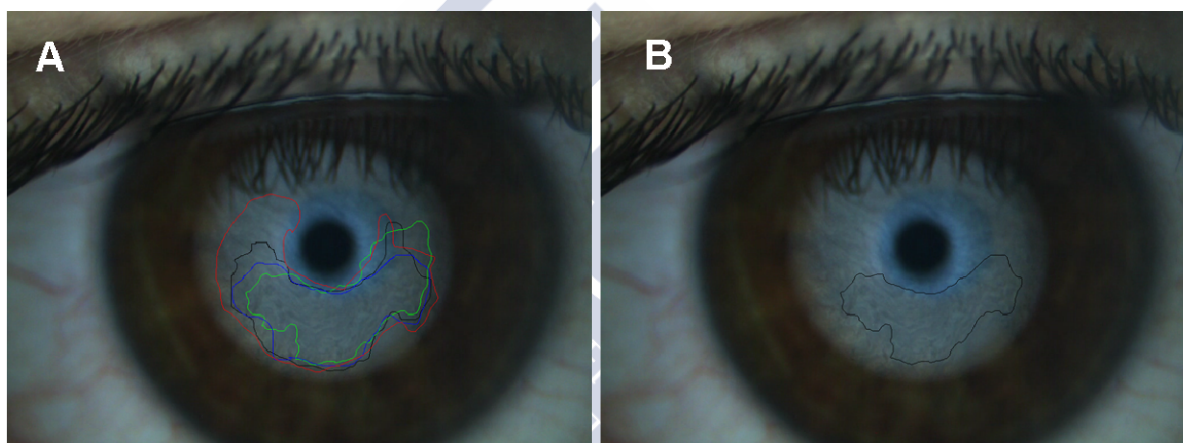


Figura 49. Imagen del PLI marcada por los observadores con la aplicación iDEAS. A) Superposición de la zona marcada realizada por los 4 observadores. Cada color representa la zona clasificada por un observador. B) Área de coincidencia o concordancia entre los 4 observadores. Este área se usará como imagen de referencia para el entrenamiento de profesionales de la visión, como el software automático.

5.1.3.1.2 iDEAS

La aplicación web iDEAS está diseñada para reunir varios servicios en el campo del análisis de imágenes en optometría.²¹¹ En términos de sus funcionalidades, este sistema proporciona un módulo de gestión de usuario para restringir el acceso al sistema sólo a usuarios identificados, es decir, optometristas autorizados. También proporciona un módulo de gestión del paciente para crear, consultar y actualizar la información relevante del paciente, así como las imágenes del patrón lipídico adquiridas con el Tearscope Plus.

Haciendo clic en una imagen, la aplicación web permite al usuario trazar manualmente distintas regiones asociadas a un PLI cada una. El observador solamente tiene que hacer clic con el ratón y arrastrar el puntero en la imagen para delinear la región. Esto determina que una imagen de varias zonas discretas del PLI pueden ser subjetivamente categorizadas en una única imagen.

En este sentido, se está desarrollando una nueva herramienta automática para identificar varias zonas del PLI en una única imagen. La metodología consiste en un sistema de “*votación ponderado*” que tiene en cuenta las “*probabilidades de pertenecer a una clase*” proporcionadas por un *clasificador blando*, y utiliza un umbral mínimo para distinguir el fondo de la imagen de los patrones de Guillon sin necesidad de usar una categoría irreal.

La metodología propuesta para crear los mapas basados en los PLIs consiste en cinco fases. La *entrada o input* es la imagen de la PL adquirida con el Tearscope Plus, y el *output* es una imagen etiquetada basada en los PLIs definidos por Guillon. En primer lugar se localiza la región de interés, donde el análisis posterior tendrá lugar. A continuación, cada ventana local dentro de esta región se analiza en términos de rasgos de textura y color, y se calculan sus probabilidades utilizando un clasificador blando. A continuación se realiza la segmentación utilizando un “*sistema de voto ponderado*” en el cual cada píxel de cada ventana recibe un voto asociado a cada clase c :

$$v_c = w_1 \cdot p_c + w_2 \cdot p_c / d$$

Donde p_c es la probabilidad de pertenecer a la clase c , d es la distancia del píxel al centro de la ventana, y w_1 y w_2 el peso, que analizan la la probabilidad y la distancia, respectivamente.

Debido a que las ventanas están superpuestas, cada píxel pertenece a varias categorías y así los votos recibidos por cada categoría se suman. Por lo tanto, al píxel se le asigna la categoría más votada sólo si el número total de votos es mayor que un umbral. Por último, el mapa de la película lagrimal obtenido es post procesado con el fin de eliminar las pequeñas regiones que por lo general corresponden a falsos positivos o áreas ruidosas.

Se debe tener en cuenta que la aplicación web iDEAS se ha probado en los navegadores web más actuales y populares que soportan JavaScript y HTML5: Mozilla Firefox (versión 3.0 o superior), Google Chrome (versión 2.0 o superior) e Internet Explorer (versión 7 o superior).

5.1.3.2 Resultados

5.1.3.2.1 Categorización subjetiva de los PLIs.

En este estudio se han utilizado 50 imágenes capturadas mediante el Tearscope para iluminar el polo anterior. Después de examinar todas las 50 imágenes, 110 áreas fueron asignados por los cuatro observadores a la misma categoría de PLI. La Tabla 21 muestra la cantidad de PLIs detectados.

Tabla 21. Número de zonas con una concordancia entre los 4 observadores después de evaluar los 50 patrones.

	Marmóero Abierto	Marmoreo Cerrado	Fluido	Amorfo	Coloreado
Número de zonas detectadas	25	22	20	26	17

Las **Figuras 50 a 54** proporcionan cuatro ejemplos de cada tipo de PLI. En cada imagen, cada área delimitada por una línea negra indica el área categorizada de forma similar por los 4 observadores.

Además de estos PLIs, se muestra una descripción de la interpretación de cada PLI deducida de la concordancia entre los cuatro observadores, de forma que ofrezca una guía para evitar malas interpretaciones. Los siguientes comentarios realizados por los 4 observadores fueron compilados para ayudar a identificar los patrones utilizando la plataforma iDEAS. Hay que señalar que todas las descripciones son específicas del Tearscope y de las características espectrales particulares de su sistema de iluminación.

Patrón Marmóreo Abierto: Este patrón representa la capa más delgada y es uno de los más difíciles de clasificar. Al marcar una zona de *Marmóreo Abierto* con la herramienta iDEAS se deben evitar las áreas más brillantes (éstos son indicativos de un patrón *Amorfo*). Cabe señalar que este patrón es apenas visible y normalmente el iris subyacente es visible a través del patrón (**Figura 50**).

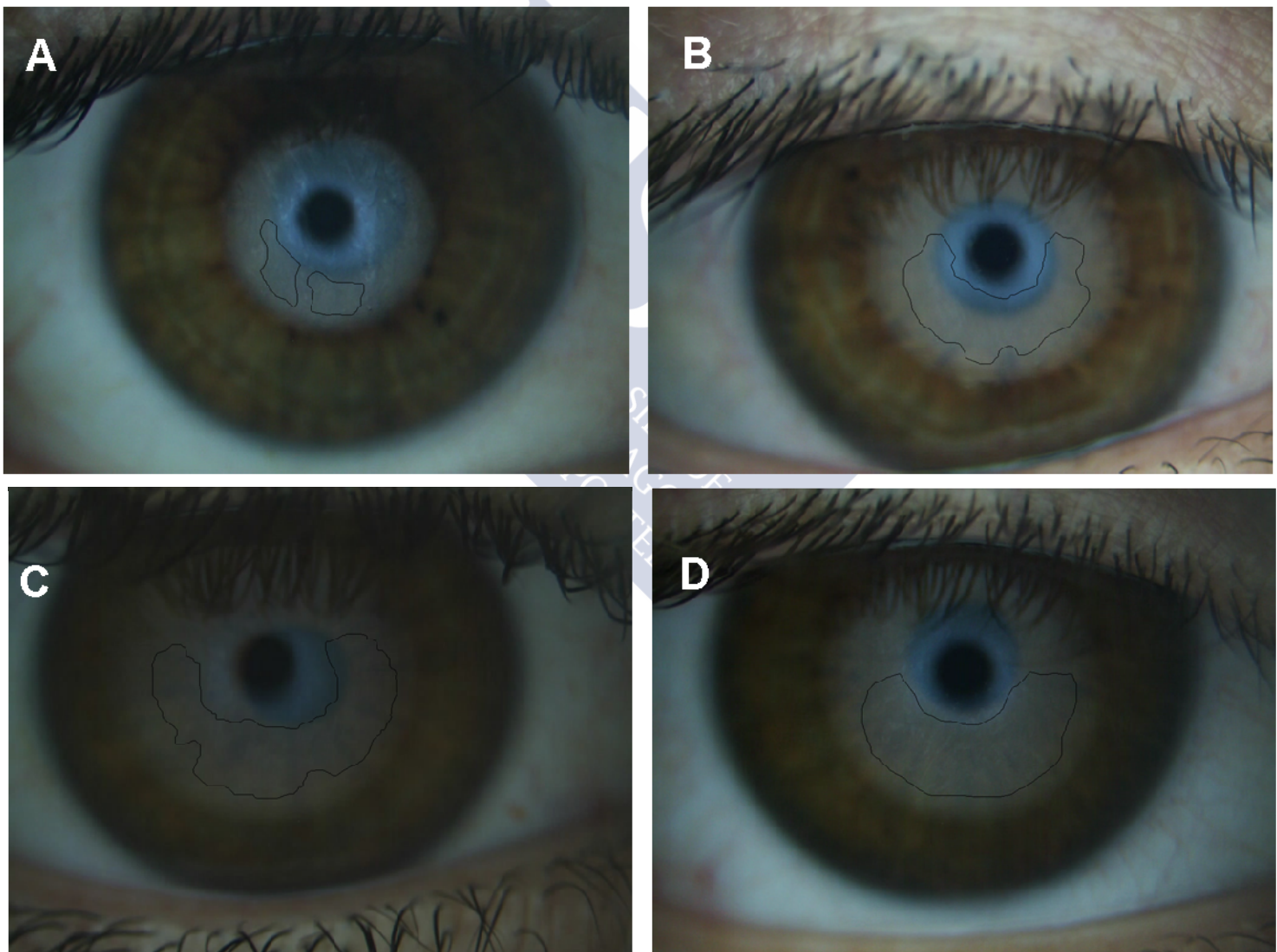


Figura 50. Patrón Marmóreo Abierto. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.

Patrón Marmóreo Cerrado: Este patrón refleja una capa lipídica más gruesa y estable que el *Marmóreo Abierto*, y sus características son más fáciles de detectar. Al marcar zonas de patrón *Marmóreo Cerrado* con la herramienta iDEAS, aparecen líneas grandes, más marcadas y más juntas que en el *Marmóreo Abierto*; y éstas pueden unirse para formar grandes picos en “zig-zag” a modo de “dientes de sierra” (Figura 51).

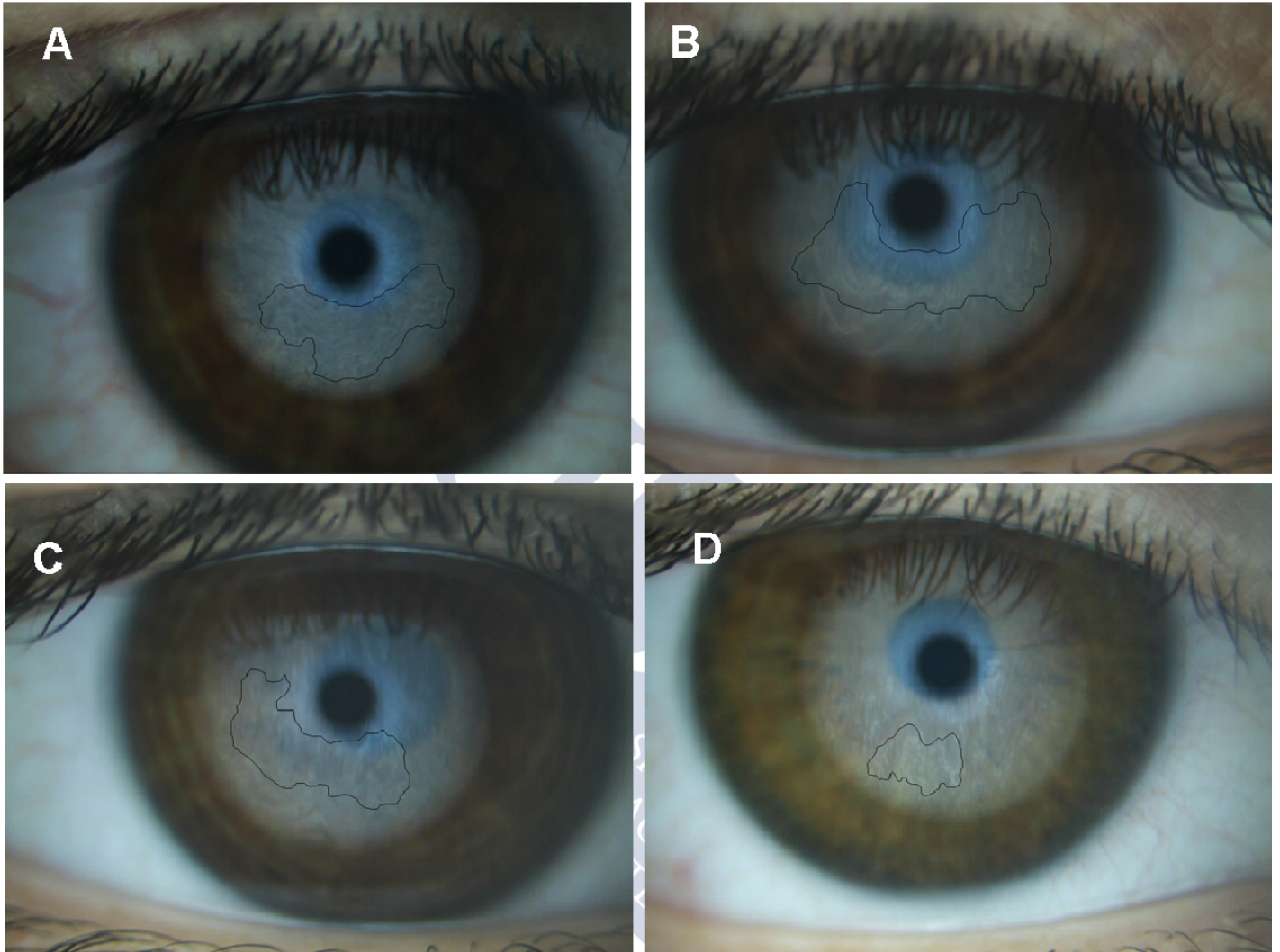


Figura 51. Patrón Marmóreo Cerrado. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.

Fluido: Este patrón representa una película lagrimal estable (**Figura 52**). Cuando se identifiquen zonas de este patrón con iDEAS, se deben buscar vetas rectas o casi rectas bien definidas.

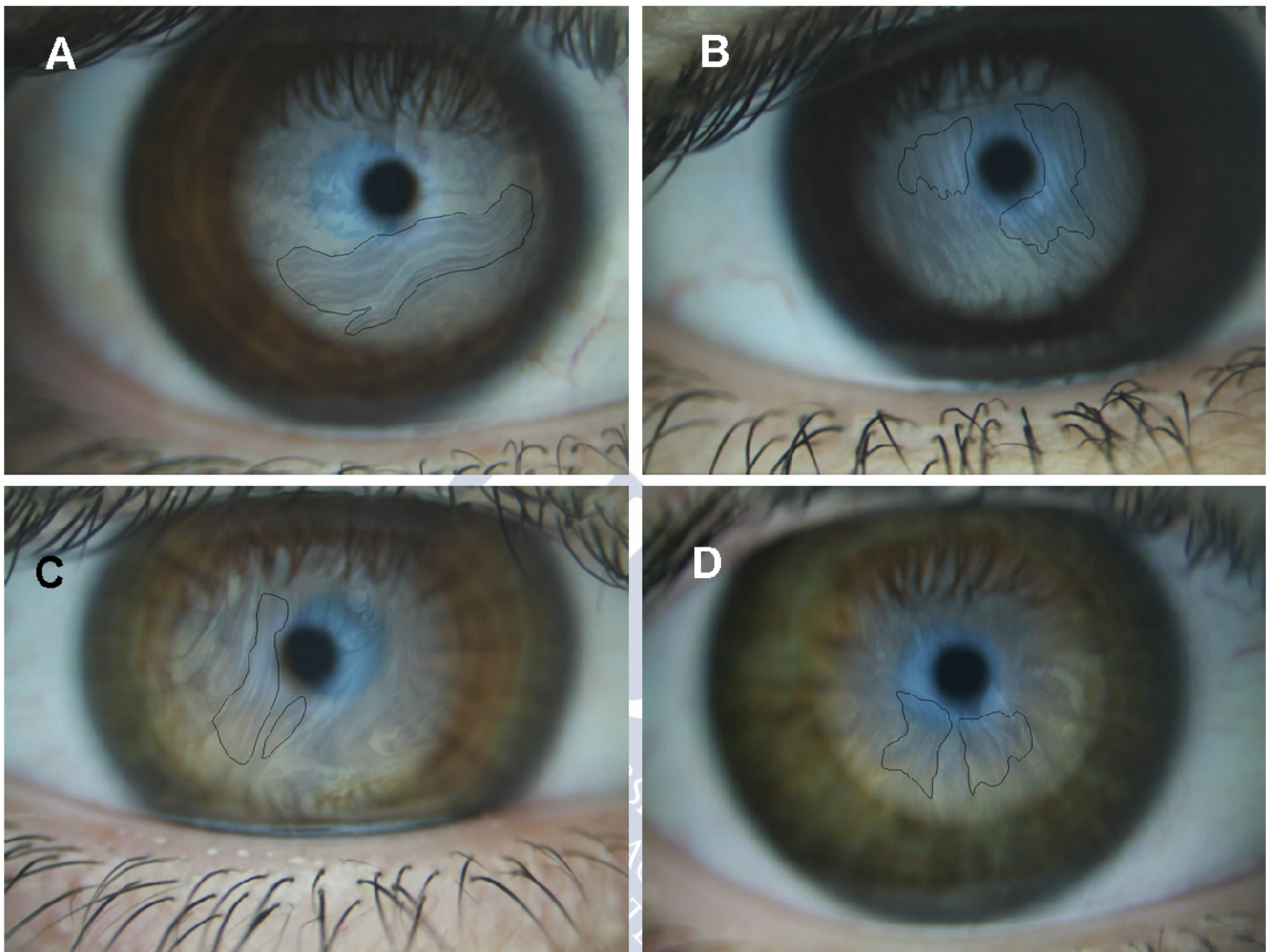


Figura 52. Patrón Fluido. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.

Amorfo: Este es el patrón más homogéneo. Al marcar estas zonas con la herramienta iDEAS, debemos tener en cuenta su falta de características y que el iris no sea visible (a diferencia de en el patrón *Marmóreo Abierto*, con el que se puede equivocar). En ocasiones se puede presentar como un patrón estrictamente *Amorfo* pero con algunas manchas oscuras dispersas. A la hora de marcar este patrón, se deben evitar estas manchas (**Figura 53**).

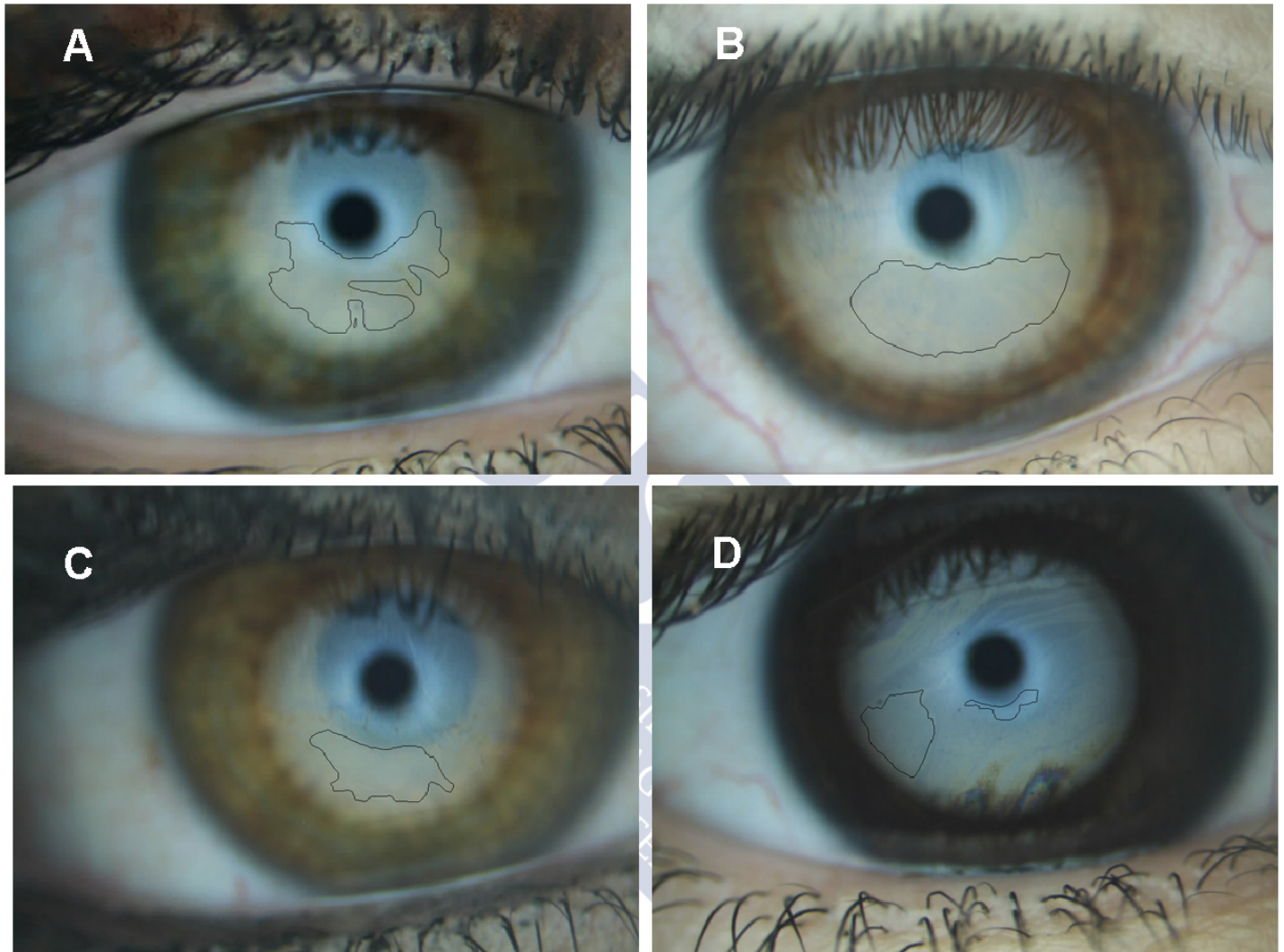


Figura 53. Patrón Amorfo. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el área de concordancia entre los 4 observadores.

Patrón Coloreado: Aunque este es el PLI más fácil de clasificar, se debe tener en cuenta que se trata básicamente de un conjunto de colores (colores marrón o amarillo-marrón aparecen por primera vez) en un fondo amarillo. Por lo tanto, si se observa solamente un color amarillo, se debería considerar más bien como patrón *Amorfo* (Figura 54).

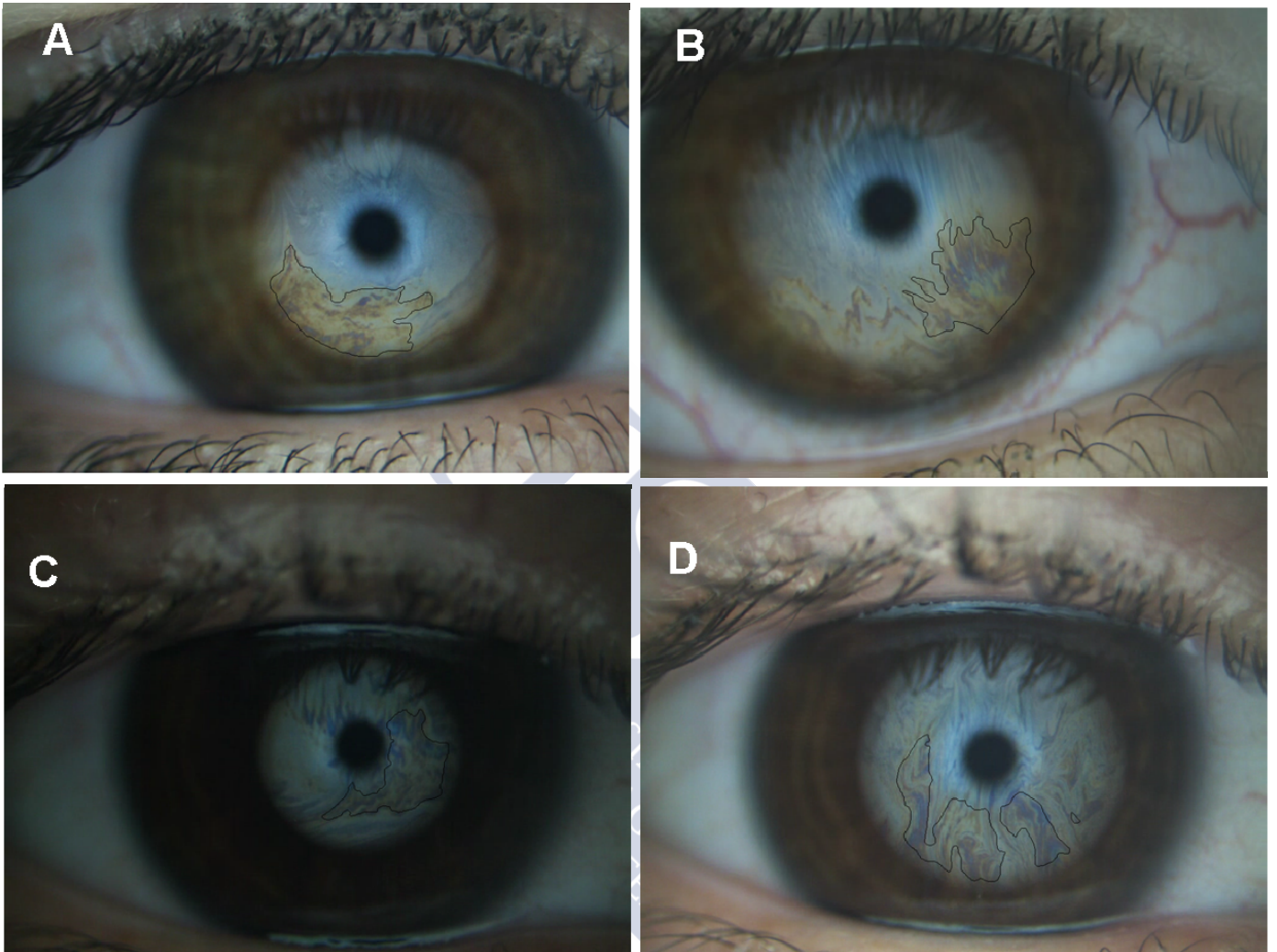


Figura 54. Patrón Coloreado. Las áreas delimitadas por la línea negra indican el area de concordancia entre los 4 observadores.

5.1.3.2.2 Patrones intermedios.

En este estudio, de las 110 imágenes iniciales se escogieron 50 para realizar el marcado de imágenes. Muchas de las imágenes descartadas eran patrones cuya categorización era muy dudosa para los observadores, sobre todo entre dos clasificaciones adyacentes, por lo que podría tratarse de *clasificaciones intermedias*. En las Figuras 55-57, a modo de muestra, se muestran ejemplos y las descripciones de estos patrones intermedios:

Patrón Intermedio Marmóreo Abierto – Marmóreo Cerrado. A medida que el espesor de la capa lipídica aumenta desde el patrón *Marmóreo Abierto*, la malla comienza a ser más compacta resultando en una transición entre los patrones *Marmóreo Abierto* y *Marmóreo Cerrado*.

Este patrón es difícil de diferenciar de los otros marmóreos. Es similar al *Marmóreo Abierto*, aunque las vetas están menos espaciadas, revelando un patrón un poco más visible. Sin embargo, este patrón no alcanza el nivel de detalle del siguiente patrón, el *Marmóreo Cerrado*. (**Figura 55**)

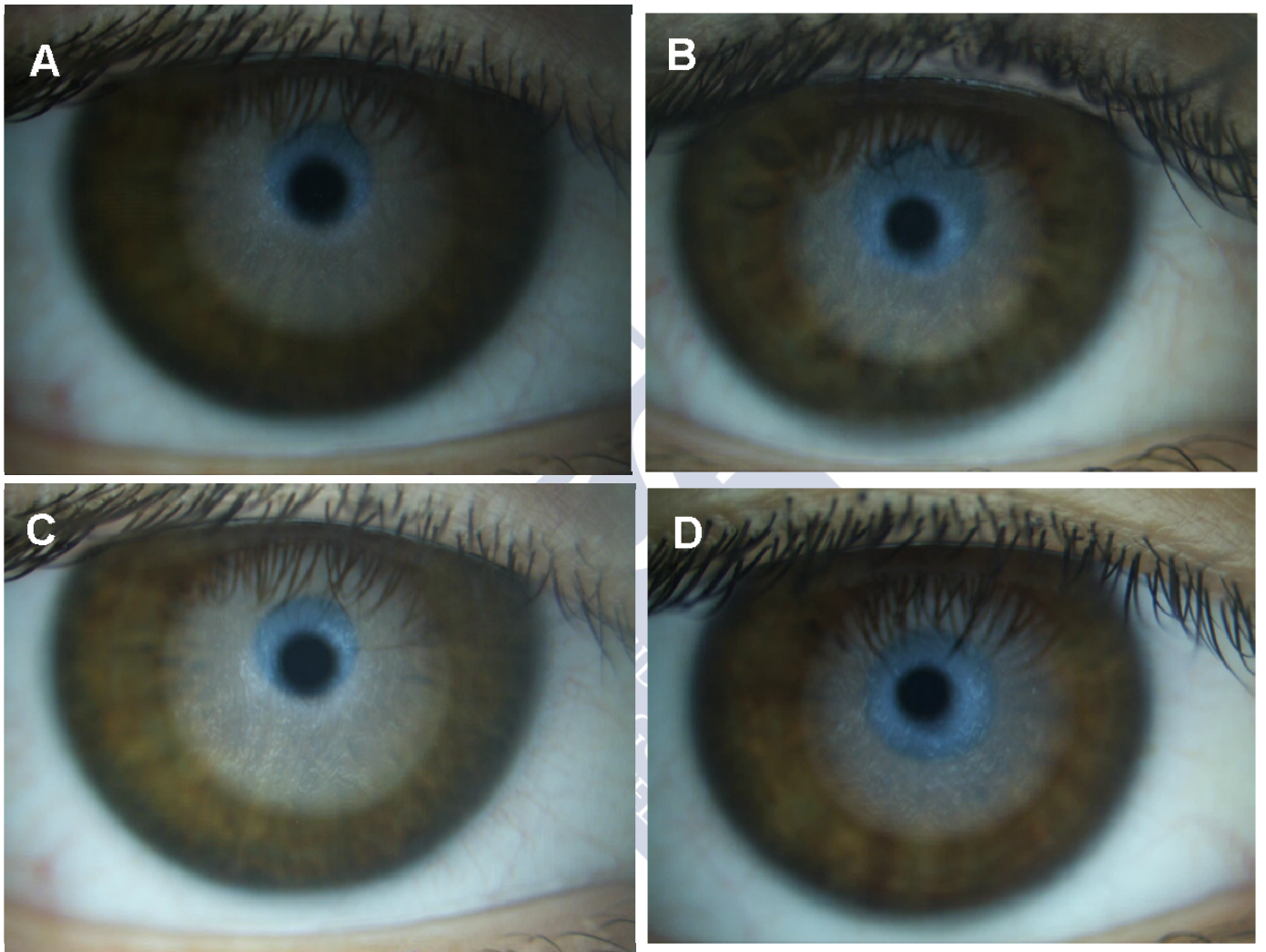


Figura 55. Patrón Intermedio Marmóreo Abierto - Marmóreo Cerrado. Las áreas oscuras están menos espaciadas, mostrando un patrón un poco más visible y detallado, pero no alcanza el nivel de detalle del siguiente nivel.

Patrón Intermedio entre Marmóreo Cerrado – Fluido. A medida que el espesor de la capa lipídica aumenta desde el patrón *Marmóreo Cerrado*, se aprecia que el patrón se hace más *Fluido*. Hay dos rasgos característicos alternativos de este patrón intermedio: 1) la malla marmórea o manchas oscuras del patrón *Marmóreo Cerrado* pasan a ser como las líneas onduladas del patrón *Fluido* pero más gruesas. Es decir, sería un paso intermedio entre las manchas grandes del *Marmóreo Cerrado* en forma de “zig-zag” o “*dientes de sierra*” y las ondulaciones finas del *Fluido*, resultando en ondulaciones gruesas. 2) La otra opción es que parezcan líneas en “zig-zag” o “*dientes de sierra*” delgadas pero (**Figura 56**)

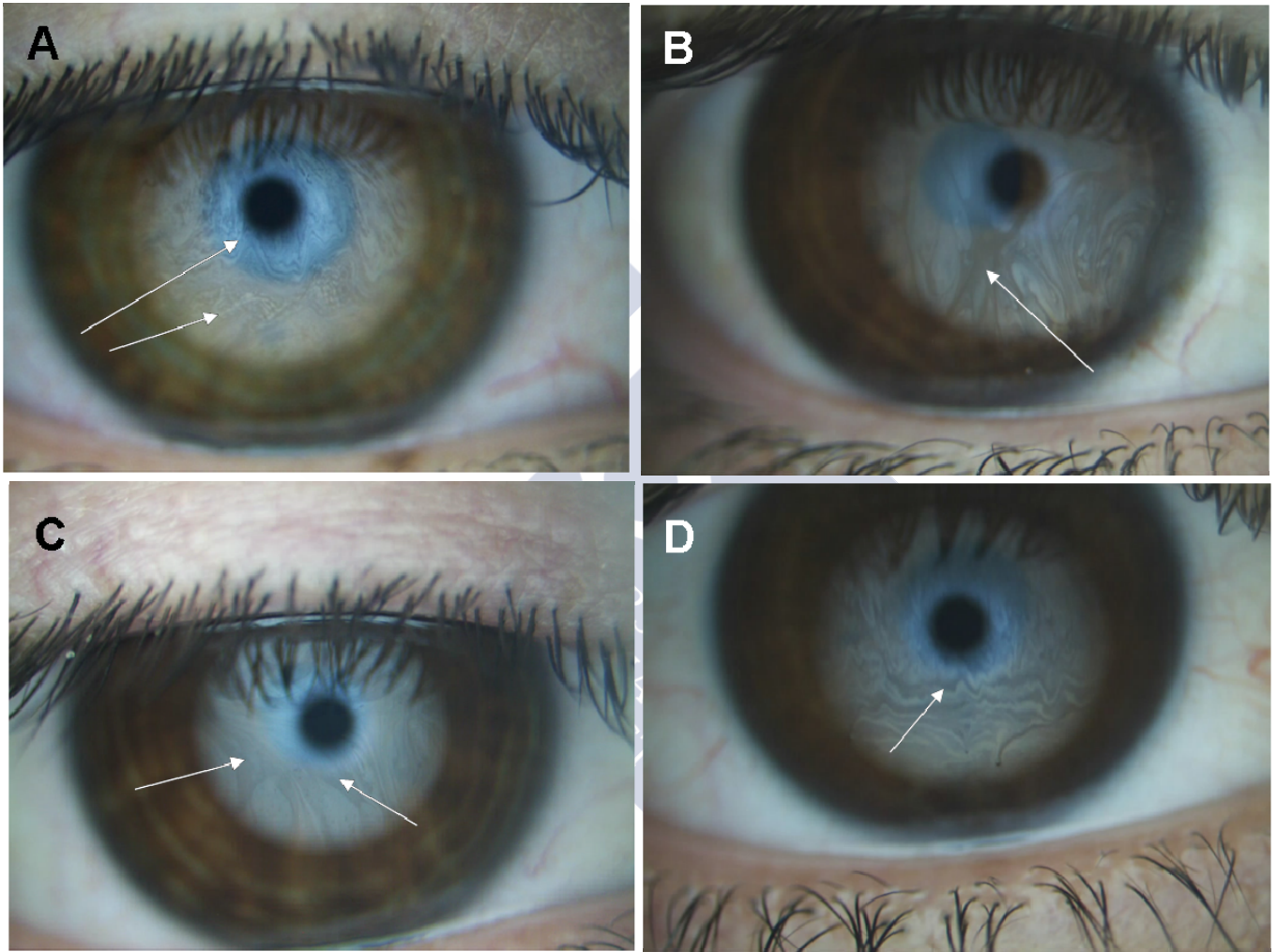


Figura 56. Figure 10. Patrón Intermedio Marmóreo Cerrado - Fluido. A) y D) muestran un PLI en dientes de sierra con finas. Las flechas blancas señalan las líneas delgadas (similares al patrón Fluido) pero con un perfil en “dientes de sierra” (similar al Marmóreo Cerrado”. B) y D) muestran un LLP con unas ondulaciones gruesas. Las flechas blancas señalan las zonas oscuras gruesas con un perfil ondulado.

Patrón Intermedio Fluido - Amorfo. Cuando la capa lipídica aumenta el grosor desde el PLI Fluido, el patrón comienza a mostrar un fondo amarillento (que corresponde al patrón *Amorfo*). La zona más gruesa es la más amarillenta. Cuando se categoriza este patrón se debe de tener en cuenta que es prácticamente igual al *Fluido*, aunque en lugar de tener un fondo grisáceo, sería un fondo amarillento (**Figura 57**).

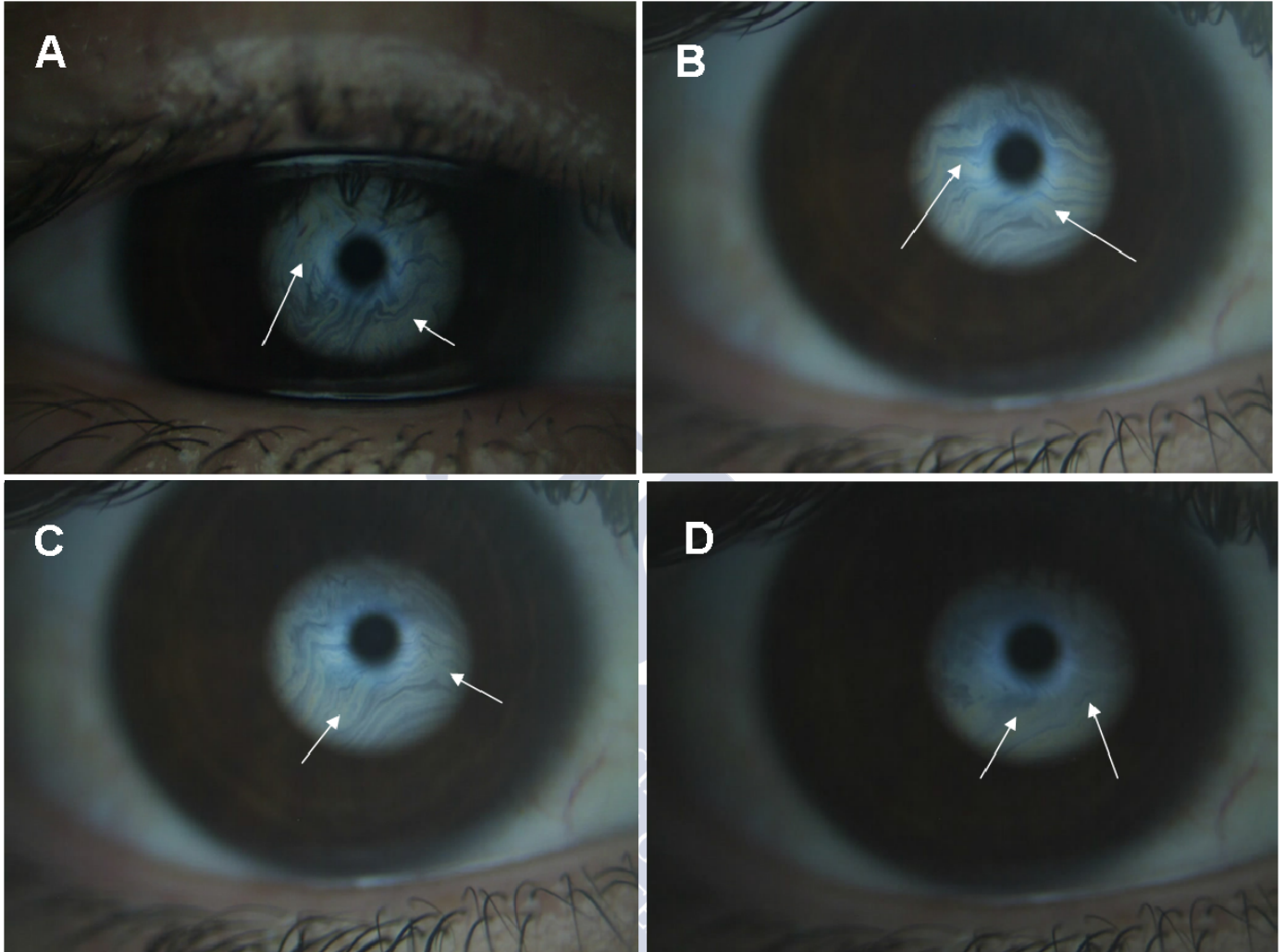


Figura 57. Patrón Intermedio Fluido - Amorfo. Tiene el aspecto de un patrón Fluido en un fondo Amarillo. El área más gruesa es más amarillenta (indicado por las flechas blancas).

5.1.3.2.3 Validación del sistema automático de análisis del PLI por zonas.

En esta sección se comparan los resultados proporcionados por el sistema automático con las anotaciones realizadas por los cuatro *observadores experimentados*.

Se debe señalar que la imagen que genera el sistema es una imagen etiquetada con un color que representa un tipo de PLI. De esta forma cada color indica: rojo se refiere a *Marmóreo Abierto*, amarillo es indicativo de *Marmóreo Cerrado*, el verde indica patrón *Fluido*, cian significa *Amorfo*, y azul indica patrón *Coloreado*. El fondo de la imagen generada se representa en negro.

La **Figura 58** muestra las anotaciones hechas por los cuatro observadores en 5 imágenes representativas, así como las respectivas imágenes de salida proporcionadas por la aplicación automática. Se puede apreciar que hay áreas de las imágenes en las que los observadores concuerdan en la clasificación, mientras que hay otras áreas en las que no hay concordancia.



Figura 58. Anotaciones realizadas por 4 observadores experimentados en 5 imágenes representativas y sus respectivas imágenes de salida proporcionadas por el sistema automático. rojo = Marmóreo Abierto, amarillo = Marmóreo Cerrado, verde = Fluido, cian = Amorfo, y azul = Coloreado

Comparación entre el sistema automático y los observadores.

A continuación, se muestra la validación del sistema automático. Para ello se consideró al sistema automático como un observador más, siendo en total 5 observadores (4 optometristas más el sistema automático).

En este proceso se compararon las áreas marcadas por un observador (cuantificado como el número de píxeles del área) con las áreas marcadas por los cuatro observadores restantes. Por lo tanto, el número de píxeles del observador en cuestión que concuerden con los otros cuatro observadores se suman y se representan gráficamente. Hay un número de píxeles en el que este observador de referencia está de acuerdo con 0, 1, 2, 3 o 4 observadores. Por lo tanto, la concordancia con 4 expertos significa un acuerdo total entre los cinco observadores hipotéticos, mientras que el acuerdo con 0 observadores implica que los píxeles fueron marcados sólo por el observador en cuestión. Esta comparación se realizó cinco veces, considerándose un observador referente distinto en cada una de ellas.

La **Figura 59** muestra los gráficos de barras indicativas de las comparaciones para cada observador. Se puede apreciar que en la comparación “*sistema contra todos*” (**Figura 59E**) hay un pequeño número de píxeles que coinciden con 0, 1, 2, y 3 expertos. Esto significa que el sistema tiene un comportamiento conservador. Por el contrario, en la gráfica “*observador 3 vs todos*” (**Figura 59C**) se muestra cómo el *observador 3* tiene un comportamiento completamente diferente del resto, ya que tiende a marcar regiones más grandes. Los otros tres observadores mostrarían una concordancia situada en un término medio entre ambos extremos, tal como se aprecia en sus respectivos gráficos (**Figura 59**). Por otra parte, el sistema automático produce algunas imágenes con regiones asociadas al patrón *Fluido* que no coinciden con ningún observador, mientras que el *observador 3* marcó algunas áreas asociadas al patrón *Coloreado* que no se correspondían con ningún observador. Por lo tanto, el comportamiento anómalo en el marcaje de algunas áreas aparece tanto en el sistema automático como en la interpretación de los observadores subjetivos. En consecuencia, se podría decir que el sistema se comporta similar a los observadores, en un grado mayor o menor, en función del patrón específico de la capa lipídica.

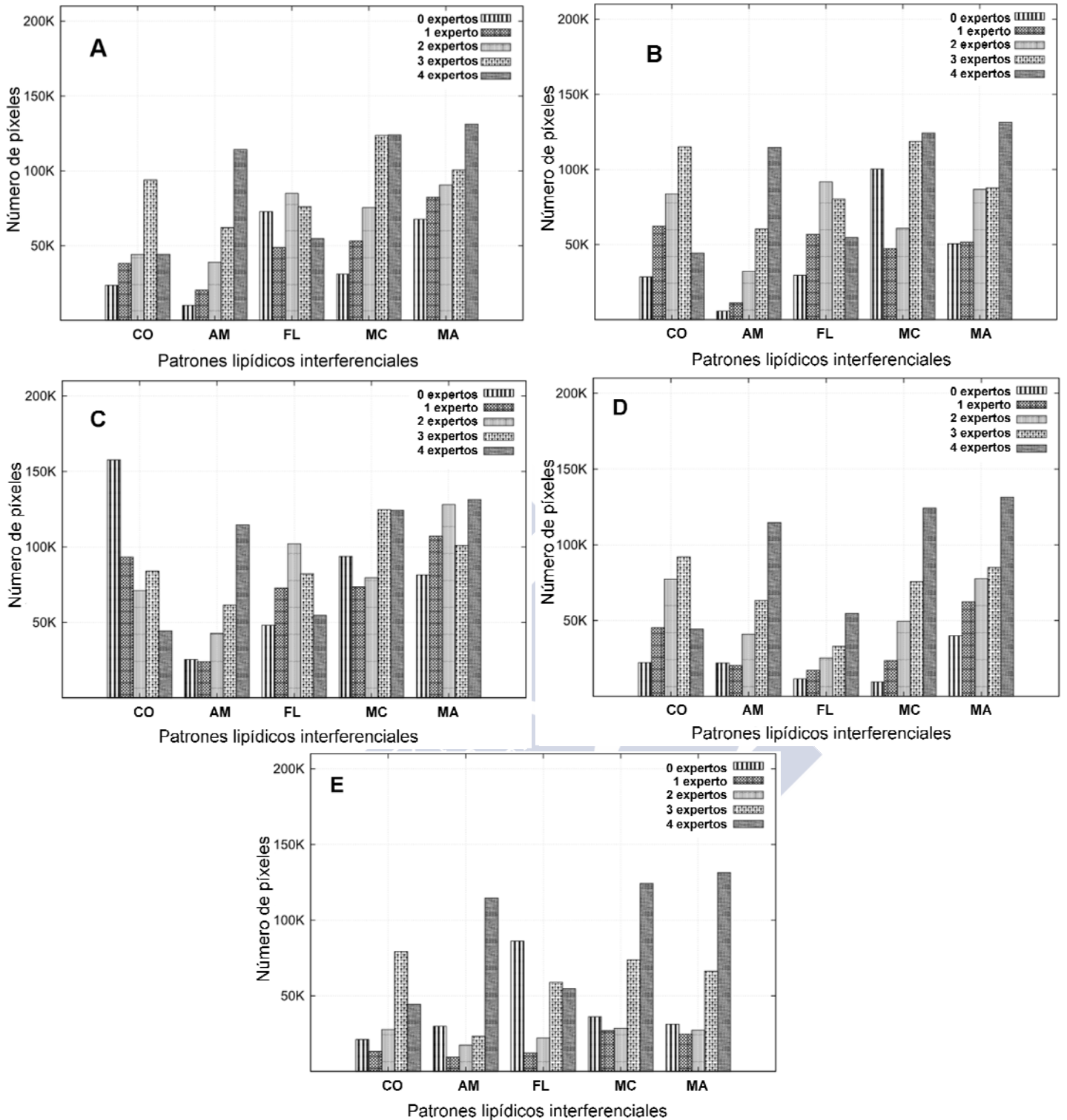


Figura 59. Gráficas de barras obtenidas de realizar la comparación entre los 5 observadores (4 observadores experimentados y el sistema automático). Un observador se denomina “observador de referencia” y se compara con el resto de los observadores. En cada comparación se muestra el número de píxeles del examinador de referencia que concuerda con los otros observadores. A) Observador 1 como “observador de referencia” B) Observador 2 como “observador de referencia” C) Observador 3 como “observador de referencia” D) Observador 4 como “observador de referencia” E) Sistema automático como “observador de referencia. MA: Marmóreo Abierto, MC: Marmóreo Cerrado, FL: Fluido, AM: Amorfo, CO: Coloreado.

5.2 ESTUDIO DE LA SECRECIÓN DEL LÍPIDO MEIBOMIANO MEDIANTE LA MEIBOMETRÍA

5.2.1 Correlación de la meibometría con la sintomatología de ojo seco.

Con el objetivo de evaluar los párpados y las glándulas de meibomio existen una serie de pruebas tal como la evaluación de la expresión de las glándulas de meibomio,^{126, 167} la meiboscopia,¹²⁶ meibografía,^{168, 169} microscopía confocal¹⁶⁴ o cuestionarios de síntomas.^{61, 107, 110, 155, 156, 212-214} Otro instrumento diseñado para este fin es el meibómetro MB550, lo que permite una evaluación rápida e in situ de la secreción de las glándulas de meibomio o meibometría, sin embargo no hay un protocolo claro para tratar los datos^{21, 42, 161, 170, 173, 175, 204, 215}

El propósito de este estudio fue evaluar si la meibometría permite diferenciar entre sujetos sanos y sintomáticos categorizados por cuestionarios de ojo seco estandarizados (OSDI y McMonnies). Además se determinó el mejor método para promediar los datos.

5.2.1.1 Procedimiento experimental

Para este estudio se reclutaron 138 sujetos pacientes (58 varones y 80 mujeres) de edad promedio $21.2 \pm 5,1$ años provenientes del protocolo general, cuyas características y criterios de exclusión se han descrito anteriormente (*capítulo 4 material y métodos*).

A todos los sujetos que formaban parte del estudio se les había determinado en el protocolo general una serie de pruebas de la PL, donde el procedimiento y orden de las mismas se detallan en el *capítulo 4 material y métodos*. Los parámetros que se incluyen en este estudio son los siguientes:

Determinación de la sintomatología del paciente mediante el cuestionario estandarizado OSDI. Aunque se acepta un valor de corte de 13 para el OSDI, existe discrepancia en el criterio de corte usado entre distintos autores. Por lo tanto, dada la naturaleza de este estudio, se permitió utilizar los dos criterios diagnósticos y se utilizaron por separado para el análisis:^{61, 110, 212, 213, 216}

- *OSDI estratificado en dos grupos (pacientes sanos – patológicos)*: Tal como se realizó en previos artículos, los sujetos fueron divididos en normales o sanos (puntuación < 15) y patológicos (puntuación ≥ 15)^{110, 216}.
- *OSDI estratificado en tres grupos*: Por otro lado, y con referencia a otros trabajos, los sujetos también se dividieron en tres grupos; sujetos normales (puntuación < 13), sujetos con SOS leve (puntuación entre 13 y 23) y severo (puntuación ≥ 23)^{61, 110, 212, 213, 216}.

Determinación de la sintomatología del paciente mediante el cuestionario estandarizado McMonnies. De la misma forma que en el OSDI, en la literatura se han propuesto distintos criterios de corte^{107, 155, 156, 213, 214}, por lo que en este caso también se utilizaron dos criterios de corte distintos para el análisis:

- *McMonnies estratificado en dos grupos (pacientes sanos – patológicos)*: Tal como se realizó en previos artículos, los sujetos fueron divididos en normales o sanos (puntuación < 14,5) y patológicos (puntuación $\geq 14,5$)^{107, 155, 156, 213, 214}.
- *McMonnies estratificado en tres grupos*: los sujetos también se dividieron en tres grupos; sujetos normales (puntuación < 10), sujetos con SOS leve (puntuación entre 10 y 20) y severo (puntuación ≥ 20)^{107, 214}.

Medición de “*the casual level*” del lípido meibomiano mediante el meibómetro MB550. El procedimiento realizado con este instrumento está ampliamente detallado en el *capítulo 4 material y métodos*. La cinta de plástico con la muestra de lípido

meibomiano obtenida del paciente se leyó con la unidad fotométrica incluida en la cabeza del meibómetro.

Los datos proporcionados por el Meibometro se mostraron en el ordenador como una curva (**Figura 25A**) y un archivo Excel (**Figura 25B**). Se generaron 5 curvas para cada paciente. Los valores dados por el Meibómetro son proporcionados en unidades meibométricas (UM)^{161, 175, 204} y se pueden convertir en equivalentes de **lauryl laurate** $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ **lid margin surface** dividiendo por 60^{42, 161, 175}.

No existe un criterio estándar de cuántas medidas hay que considerar para cada curva.^{161, 170, 173, 175, 215} El fabricante sólo refiere “*tomar los valores centrales de la curva característica*”. Por lo tanto, en el presente estudio se consideraron tres formas distintas de promediar los datos de las curvas características:

- *Media de los picos de cada curva (Media_1)*: En este caso se consideró solo el valor más alto de cada una de las cinco curvas y se promediaron para obtener el valor medio.
- *Media de los 8 valores centrales (Media_8)*: Se consideraron los 8 valores centrales de cada una de las cinco curvas y se promediaron todas para obtener el valor medio.
- *Media de los 15 valores centrales (Media_15)*: Se consideraron los 8 valores centrales de cada una de las cinco curvas y se promediaron todas para obtener el valor medio.

5.2.1.2 Resultados

Los datos de la meibometría se agruparon en cada subgrupo según el cuestionario de ojo seco (considerando OSDI y McMonnies de forma) para evaluar si habían diferencias entre los resultados del meibómetro.

Se utilizó la prueba-t para muestras independientes para valorar las diferencias de los resultados del meibómetro en la clasificación estratificada en dos grupos (sanos – patológicos). Para la clasificación estratificada en tres grupos se utilizó el ANOVA de un factor²⁰⁸.

Los estadísticos descriptivos para el total de la muestra de estudio (n = 138) se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. Estadísticos descriptivos (n = 138). DE: Desviación estándar. IQR: Rango intercuartil

		Media/ Mediana	DE/ IQR	Minimo	Maximo
Puntuación OSDI		8.33	4.17 - 16.67	0.00	56.25
Puntuación McMonnies		6.00	3.00 - 8.00	0.00	29.00
Meibometro [UM]	Media_1	406.49	146.76	90.20	712.20
	Media_8	353.51	136.53	76.30	680.43
	Media_15	276.75	119.43	48.79	589.24

En las tablas 23, 24, 25 y 26 se muestran las diferencias de los resultados del meibómetro entre los subgrupos de síntomas según OSDI y McMonnies, ya sea con la estratificación en dos grupos (prueba-t para muestras independientes) o en tres grupos (ANOVA de un factor). Además, con el objetivo de mostrar la distribución de cada grupo sintomático también se indican los estadísticos descriptivos de edad (media \pm DE)²⁰⁸.

5.2.1.2.1 Análisis de la meibometría entre los subgrupos estratificados por el cuestionario OSDI.

Los descriptivos estadísticos de las unidades meibométricas en los grupos estratificados por el cuestionario OSDI (Tabla 23 y Tabla 24) mostraron en general una tendencia a la disminución en el valor de unidades meibométricas a medida que aumentaban los síntomas.

Para la clasificación en dos subgrupos sintomáticos (Tabla 23), la prueba-t para muestras independientes mostró que esta diferencia era estadísticamente significativa cuando la meibometría se promediaba con el valor mayor de las 5 curvas (*Media_1*) ($p = 0,017$) y cuando se promediaban los 8 valores más altos de cada curva (*Media_8*) ($p = 0,025$). Sin embargo no se encontraron diferencias entre los dos grupos de OSDI cuando el criterio de promedio del meibómetro consideraba los 15 valores centrales de cada curva (*Media_15*) ($p = 0,129$).

Tabla 23. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por OSDI en dos grupos. DE: Desviación estándar.

	Subgrupo dividido por puntuación OSDI	n	Edad	OSDI	Meibometro [UM]	Meibómetro [UM/μg]	p
			(Media ± DE)	(Mediana)	(Mean ± SD)	(Mean ± SD)	
Media_1	OSDI < 15	94	20,75 ± 4,43	6,25	423,73 ± 137,97	7,06 ± 2,30	0,017
	OSDI ≥ 15	46	22,57 ± 6,74	22,72	355,76 ± 161,64	5,93 ± 2,69	
Media_8	OSDI < 15	94	20,75 ± 4,43	6,25	368,66 ± 130,31	6,15 ± 2,17	0,025
	OSDI ≥ 15	46	22,57 ± 6,74	22,72	308,91 ± 146,39	5,15 ± 2,44	
Media_15	OSDI < 15	94	20,75 ± 4,43	6,25	285,76 ± 116,21	4,76 ± 1,94	0,129
	OSDI ≥ 15	46	22,57 ± 6,74	22,72	250,23 ± 126,46	4,17 ± 2,11	

Para la clasificación en tres grupos sintomáticos (Tabla 24), el test ANOVA mostró una diferencia significativa de los resultados del meibómetro para el promedio *Media_1* ($p = 0,044$). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas cuando los resultados del meibómetro se promediaron con los 8 valores centrales (*Media_8*) ($p = 0,063$) o los 15 valores centrales (*Media_15*) ($p = 0,238$).

Tabla 24. Estadísticos descriptivos y diferencias (ANOVA de un factor) para la meibometría entre sujetos estratificados por OSDI en tres grupos. DE: Desviación estándar.

	Subgrupos estratificados por OSDI	n	Age (Mean \pm SD)	OSDI (Median)	Meibometro (Mean \pm SD) [UM]	Meibometro (Mean \pm SD) [UM/ μ g]	p
Media_1	OSDI < 13	82	20,83 \pm 4,62	6,25	427,68 \pm 136,44	7,13 \pm 2,27	0,044
	OSDI \geq 13 y < 23	37	20,84 \pm 2,60	16,67	364,19 \pm 168,83	6,07 \pm 2,81	
	OSDI \geq 23	19	24,85 \pm 10,23	29,17	354,17 \pm 138,69	5,90 \pm 2,31	
Media_8	OSDI < 13	82	20,83 \pm 4,62	6,25	372,09 \pm 129,75	6,20 \pm 2,16	0,063
	OSDI \geq 13 y < 23	37	20,84 \pm 2,60	16,67	316,81 \pm 153,00	5,28 \pm 2,55	
	OSDI \geq 23	19	24,85 \pm 10,23	29,17	306,65 \pm 123,54	5,11 \pm 2,06	
Media_15	OSDI < 13	82	20,83 \pm 4,62	6,25	288,45 \pm 117,50	4,81 \pm 1,96	0,238
	OSDI \geq 13 y < 23	37	20,84 \pm 2,60	16,67	254,36 \pm 130,92	4,23 \pm 2,18	
	OSDI \geq 23	19	24,85 \pm 10,23	29,17	245,55 \pm 97,88	4,09 \pm 1,63	

Hay que señalar que en todos los casos todas las comparaciones mostraron una tendencia lógica, indicando que a mayor valor de OSDI menor valor de unidades meibométricas.

5.2.1.2.2 Análisis de la meibometría entre los subgrupos estratificados por el cuestionario McMonnies.

En la Tabla 25 y la Tabla 26 se muestran los estadísticos descriptivos y las diferencias medias de los valores de meibometría para cada estratificación subjetiva. De forma similar a como ocurría con el OSDI, se observó una tendencia a disminuir la cantidad de lípido a medida que la severidad de los síntomas aumentaba. Así, para la clasificación de McMonnies en dos grupos (Tabla 25), la prueba-t para muestras independientes mostró que habían diferencias estadísticamente significativas para todos los criterios de promedio (*Media_1*, $p = 0.04$; *Media_8*, $p = 0.04$; *Media_15*, $p = 0.05$).

Tabla 25. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por McMonnies en dos grupos. DE: Desviación estándar.

	Subgrupos estratificados por McMonnies	n	Edad	McMonnies	Meibometro [UM]	Meibometro [UM/μg]	p
			(Media ± SD)	(Mediana)	(Media ± DE)	(Media ± DE)	
Media_1	McMonnies < 14,5	105	21,24 ± 5,29	5,00	412,78 ± 146,81	6,88 ± 2,45	0,04
	McMonnies ≥ 14,5	33	20,63 ± 1,69	15,50	304,35 ± 107,84	5,07 ± 1,80	
Media_8	McMonnies < 14,5	105	21,24 ± 5,29	5,00	359,42 ± 136,30	5,99 ± 2,27	0,04
	McMonnies ≥ 14,5	33	20,63 ± 1,69	15,50	257,50 ± 106,29	4,29 ± 1,77	
Media_15	McMonnies < 14,5	105	21,24 ± 5,29	5,00	281,68 ± 119,06	4,69 ± 1,98	0,05
	McMonnies ≥ 14,5	33	20,63 ± 1,69	15,50	196,60 ± 100,64	3,28 ± 1,68	

Por el contrario, cuando los sujetos se clasificaron en tres grupos según el McMonnies (Tabla 26), no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de severidad en ningún criterio de promedio (ANOVA en todos los casos $p < 0.29$).

Tabla 26. Estadísticos descriptivos y diferencias (prueba-t para muestras independientes) para la meibometría entre sujetos estratificados por McMonnies en tres grupos. DE: Desviación estándar.

	Subgrupos estratificados por McMonnies	n	Age	McMonnies	Meibometro	Meibometro	p
			(Mean ± SD)	(Mediana)	(Media ± DE) [UM]	(Media ± DE) [UM/μg]	
Media_1	McMonnies < 10	86	21,48 ± 5,60	4,00	407,49 ± 151,74	6,79 ± 2,53	0,30
	McMonnies ≥ 10 y < 20	34	20,04 ± 2,24	11,00	415,04 ± 121,82	6,91 ± 2,03	
	McMonnies ≥ 20	18	20,00 ± 1,41	24,50	248,00 ± 99,03	4,13 ± 1,65	
Media_8	McMonnies < 10	86	21,48 ± 5,60	4,00	354,06 ± 140,74	5,90 ± 2,35	0,29
	McMonnies ≥ 10 y < 20	34	20,04 ± 2,24	11,00	363,30 ± 115,81	6,06 ± 1,93	
	McMonnies ≥ 20	18	20,00 ± 1,41	24,50	205,20 ± 94,67	3,42 ± 1,57	
Media_15	McMonnies < 10	86	21,48 ± 5,60	4,00	277,03 ± 122,47	4,61 ± 2,04	0,30
	McMonnies ≥ 10 y < 20	34	20,04 ± 2,24	11,00	286,03 ± 105,29	4,76 ± 1,75	
	McMonnies ≥ 20	18	20,00 ± 1,41	24,50	150,03 ± 92,99	2,50 ± 1,55	

Tal como se observó en las comparaciones del OSDI, Hay que señalar que en todos los casos todas las comparaciones mostraron una tendencia lógica, indicando que a mayor valor de McMonnies menor valor de unidades meibométricas.

5.3 OSMOLARIDAD Y MENISCO LAGRIMAL.

5.3.1 Estudio de la repetibilidad del osmómetro Tear Lab

Actualmente está establecida la importancia de la evaluación de la osmolaridad en el estudio de la película lagrimal, ya que la osmolaridad elevada o hiperosmolaridad es una característica común a todos los tipos de ojo seco, siendo uno de los principales mecanismos de esta enfermedad, así como la principal causa del daño e inflamación de la superficie ocular¹⁴.

Sin embargo, medir la osmolaridad en clínica supone una tarea complicada, debido principalmente a la dificultad en la extracción de lágrima. Para ello, se ha diseñado el osmómetro Tear Lab, que permite medir la osmolaridad del paciente in situ con sólo 0.5 µl de lágrima, siendo el único osmómetro indicado para evaluación de la lágrima in vivo.

Por lo tanto, el propósito de este estudio es valorar la fiabilidad del osmómetro TearLab mediante dos análisis:

1) *Evaluación de la precisión de las medidas mediante un estudio in vivo utilizando muestras estándar.*

2) *Examinar la repetibilidad intersesión mediante un estudio in vivo de medidas realizadas en lágrimas de pacientes reales.*

5.3.1.1 Procedimiento experimental

5.3.1.1.1 Estudio in vitro usando muestras estándar

Para evaluar la exactitud de las mediciones proporcionadas por el TearLab se utilizaron 3 soluciones de osmolaridad/osmolalidad conocida (Tabla 27): la solución de referencia Clinitrol™ 290 (Advanced Instruments, Inc.); y dos soluciones salinas normales (lágrimas artificiales) que simulan una osmolaridad normal de 297 mOsm/L (Normal Osmolarity Control Solution, TearLab™ Corp) y una osmolaridad anormal de 338 mOsm/L (High Osmolarity Control Solution, TearLab™ Corp.). Todas estas soluciones son soluciones estándar utilizadas para calibrar instrumentos.

Por otro lado, se debe de tener en cuenta que "Osmolalidad" y "osmolaridad" son dos términos que se utilizan indistintamente en soluciones muy diluidas. Las soluciones biológicas son en su mayoría agua y por lo tanto los dos términos pueden ser similares. En el caso de las lágrimas, la diferencia entre la osmolaridad y la osmolalidad es menos de 1-5%, por lo que ambos términos se usan generalmente intercambiados^{144, 145}

Tabla 27. Valores proporcionados por los fabricantes de las soluciones de referencia. Las unidades se especifican (mOsm/kg o mOsm/L) en la guía del producto.

Standard	Fabricante	Valor esperado	Rango esperado
Advanced® Clinitrol™ 290 mOsm/kg H ₂ O Reference Solution	Advanced Instruments, Inc.	290 mOsm/kg	±2 mOsm/kg
Normal Osmolarity Control Solution	TearLab Corp.	297 mOsm/L	±15 mOsm/L
High Osmolarity Control Solution	TearLab Corp.	338 mOsm/L	±15 mOsm/L

5.3.1.1.2 Estudio in vivo usando muestras de lágrimas reales.

Para este estudio se reclutaron 50 sujetos (de 18 a 34 años) provenientes del protocolo general, cuyas características y criterios de exclusión se han descrito anteriormente (*capítulo 4 material y métodos*).

A todos los sujetos se les midió la osmolaridad de la película lagrimal con el osmómetro TearLab siguiendo el protocolo general tal como se describe en la sección 4 *material y métodos*. Asimismo, debido las características particulares de este estudio de repetibilidad, a los 50 sujetos seleccionados se les pidió repetir únicamente la medida de osmolaridad con TearLab una semana más tarde. Se verificó que la segunda medida de osmolaridad se realizara en la misma hora del día que la primera sesión.

5.3.1.2 Resultados

5.3.1.2.1 Precisión de las medidas del osmómetro TearLab en muestras estándar con valores conocidos (estudio in vitro)

En la Tabla 28 se muestra los estadísticos descriptivos de las medidas de osmolaridad obtenidas con el TearLab en muestras de referencia. Mediante la prueba-t de una muestra, se compararon las medidas obtenidas por cada muestra con el valor de referencia conocido (Tabla 28), indicando que para la muestra estándar de 297 los valores obtenidos no mostraron diferencias con el valor esperado. Sin embargo, para las restantes muestras, las medidas de TearLab resultaron ser estadísticamente diferentes con respecto a los valores de referencia, siendo esta diferencia menor para la muestra de 338 que para la de 290 (Tabla 28).

Tabla 28. Estadísticos descriptivos y diferencias (valores obtenidos - valores esperados) de la osmolaridad obtenida con el TearLab con muestras de referencia para n = 20 medidas. DE = desviación estándar.

Osmolaridad de referencia	Media	DE	Mínimo	Máximo	Diferencia Media	p
290	293.40	3.36	287.00	300.00	3.40	<0.001
297	297.80	2.55	292.00	301.00	0.80	0.18
338	340.00	2.34	335.00	343.00	2.00	0.001

5.3.1.2.2 Repetibilidad Intersesión de las medidas de osmolaridad realizadas en lágrimas humanas (estudio in vivo)

En primer lugar se comprobó el perfil de las muestras mediante el test de Kolmogorov Smirnov, lo que reveló que los datos obtenidos respondían a una distribución normal tanto para la sesión 1 ($p = 0,96$), como para la sesión 2 ($p = 0,99$). Los estadísticos descriptivos de los valores de osmolaridad obtenida en cada sesión se muestran en la Tabla 29.

Tabla 29. Estadísticos descriptivos de los valores de osmolaridad (mOsm/L) medidos con el TearLab™ obtenidos en n=50 sujetos en cada sesión. DE = desviación estándar.

Sesión	Media	DE	Mínimo	Máximo
<i>Sesión 1</i>	305,21	10,90	283,00	329,00
<i>Sesión 2</i>	302,32	10,86	284,00	328,00

Para evaluar la repetibilidad intersesión, se compararon los valores de osmolaridad obtenida con el TearLab en cada sesión mediante la prueba-t para muestras relacionadas, así como el análisis de Bland y Altman. No se encontraron diferencias significativas entre las medidas obtenidas entre las dos sesiones (prueba-t, $p = 0.14$) (tabla 4).

Tabla 30. Prueba-t para muestras relacionadas para la diferencias de los valores de osmolaridad obtenidas con el TearLab entre ambas sesiones de medida. DE = desviación estándar. IC 95% = Intervalos del 95% de confianza.

	Diferencia Media	DE	p	IC 95%	
				Mínimo	Máximo
Sesión 1 vs. Sesión 2	2.89	13.21	0.140	-23.00	28.78

El análisis de Bland y Altman²⁰⁹ se muestra en la **Figura 60**, donde se puede apreciar las gráficas que representan la media frente a la diferencia de los valores de osmolaridad obtenidos entre las dos sesiones.

Tal como se puede apreciar en la **Figura 60** y en la Tabla 30, los intervalos del 95% de confianza son extensos, indicando un coeficiente de repetibilidad ($1.96 \times DE$) de 25.89 mOsm/L. Atendiendo a los IC 95% esto supone que existe un 95% de probabilidad de que las diferencias entre dos medidas de osmolaridad obtenidas en el mismo sujeto puede llegar a ser de 28.78 mOsm/L. A su vez, se realizó una análisis de correlación entre la media y la diferencia para verificar si las diferencias entre sesiones eran dependientes de los valores de osmolaridad, y no se encontró tal correlación ($r = 0,004$, $p = 0,98$), lo que confirmó que las diferencias entre sesiones no dependía del valor de osmolaridad.

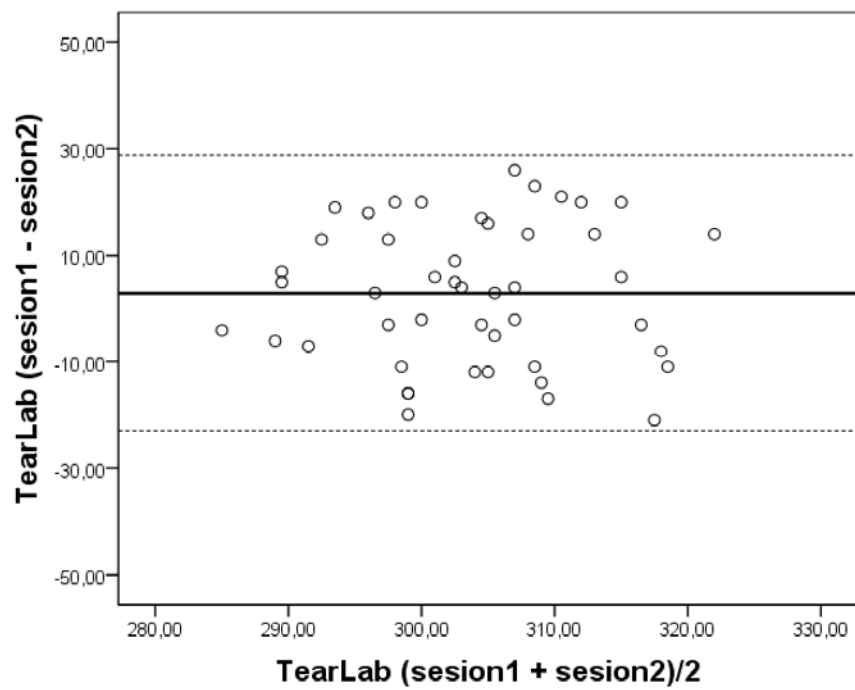
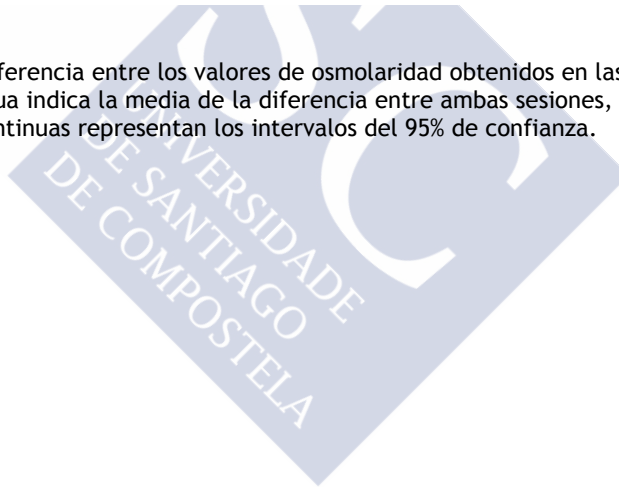


Figura 60. Media frente a la diferencia entre los valores de osmolaridad obtenidos en las dos sesiones en n = 50 sujetos. La línea continua indica la media de la diferencia entre ambas sesiones, mientras que las líneas discontinuas representan los intervalos del 95% de confianza.



5.3.2 Estudio de los parámetros del menisco lagrimal

La altura del menisco lagrimal (TMH) es un parámetro muy útil ya que muestra una indicación no invasiva del volumen total de la película lagrimal. Sin embargo, existe mucha controversia en la forma de medir el menisco.

Por lo tanto, el propósito de este estudio es estandarizar los parámetros del TMH obtenidos y capturados mediante análisis de imágenes utilizando como sistema de observación la LH y el Tearscope Plus, y evaluar:

1. Diferencias entre TMH absoluto, TMH reflejo, TMH con instilación de fluoresceína (todos ellos medidos con LH) y el TMH medido con Tearscope.
2. Diferencias entre el TMH absoluto y reflejo central, nasal y temporal medidos con LH
3. Correlación entre el valor del TMH objetivo y la evaluación subjetiva obtenida mediante el criterio de un observador experimentado. Asimismo, se proporciona una escala gráfica de graduación subjetiva del menisco.

5.3.2.1 Procedimiento experimental

Este estudio se realizó en 121 sujetos (51 varones y 70 mujeres), con una edad media de $21,14 \pm 4,71$ años (rango de edad de 18 a 25 años). Los criterios de exclusión están ampliamente descritos en el **capítulo 4 material y métodos**.

Además de verificar los criterios de inclusión generales, en estudio se verificó que los sujetos estaban libres de presentar SOS, por lo que, previo al estudio, se establecieron unos valores de corte < 13 para el cuestionario OSDI^{21, 104, 110} y $< 14,5$ para el cuestionario McMonnies^{21, 217}, siendo excluidos si los sujetos fallaban los dos criterios.

Tal como se indica en el **capítulo 4 material y métodos**, a todos los sujetos se les había grabado en vídeo el TMH mediante la LH en sus tres variantes (menisco central, nasal y temporal) sin fluoresceína y el menisco central con fluoresceína. Además se le examinó el TMH utilizando el Tearscope-Plus como sistema de observación.

Una vez obtenidos los vídeos se extrajeron las imágenes para su posterior análisis. El protocolo de exploración y los criterios de extracción de las imágenes están ampliamente detallados en el **capítulo 4 material y métodos**.

5.3.2.1.1 Selección de las imágenes de menisco lagrimal.

Se extrajeron un total de 605 imágenes (de 121 pacientes) extraídas de los vídeos adquiridos durante la evaluación, resultando un total de 5 imágenes por sujeto:

- Una imagen del menisco central adquirido mediante el Tearscope-Plus
- Cuatro imágenes del menisco adquiridos mediante la LH en distintas posiciones.
 - menisco central
 - menisco nasal
 - menisco temporal
 - menisco central con fluoresceína.

En todos los casos la selección de imágenes siempre siguió el mismo criterio, es decir, durante la observación del vídeo y después del último parpadeo, la imagen se capturó cuando el menisco estaba estable y completamente extendido con mínimos cambios.

5.3.2.1.2 Valoración objetiva del menisco

Para la cuantificación del TMH se utilizó la aplicación informática ImageJ²⁰⁷ con el que se establecieron todos los parámetros de la altura del menisco lagrimal que están descritos en el **capítulo 4 material y métodos**.

5.3.2.1.3 Evaluación subjetiva del menisco

La evaluación subjetiva del menisco se realizó valorando las imágenes capturadas de los pacientes de acuerdo al esquema indicado en la **Tabla 3 del capítulo 4 material y métodos**. Los grados 1 y 2 implican un menisco sano, mientras que los grados 3 y 4 representan meniscos anormales, indicativos de ojo seco. Se realizaron dos tipos de valoraciones, una primera valoración considerando las imágenes del menisco central sin fluoresceína iluminado con la LH (TMH-CA) y una segunda valoración con las imágenes del menisco central iluminadas con el Tearscope (TMH-Tc).

5.3.2.2 Resultados

En la Tabla 31 se muestra los descriptivos estadísticos para todas las medidas de la TMH distribuidas por localización. Se indican la media, desviación estándar (DE) y valores máximos y mínimos.

Tabla 31. Estadísticos descriptivos de los tres métodos medidos (mm). DE: Desviación Estándar. n = 121. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

Técnica	Procedimiento		Variable	Media	DE	Mínimo	Máximo
Lámpara de hendidura	Absoluto	Central	TMH-CA	0.209	0.049	0.08	0.36
		Lateral	TMH-TA	0.230	0.043	0.13	0.34
			TMH-NA	0.209	0.044	0.08	0.32
	Reflejo	Central	TMH-CR	0.139	0.031	0.06	0.21
		Lateral	TMH-TR	0.155	0.031	0.07	0.25
			TMH-NR	0.150	0.033	0.06	0.24
Fluoresceína	Absoluto		TMH-F	0.222	0.058	0.09	0.43
Tearscope	Absoluto		TMH-Tc	0.175	0.045	0.08	0.39
	Reflejo		TMH-TcR	0.109	0.029	0.04	0.23

5.3.2.2.1 Comparación entre la altura central absoluta y refleja y entre técnicas de iluminación.

La Tabla 32 muestra las diferencias entre los parámetros del TMH central medidos con distintos métodos. Se puede apreciar que el menisco absoluto fue estadísticamente más alto que el reflejo tanto para las variables obtenidas con LH (TMH-CA - TMH-CR, $p < 0.001$), como bajo la observación del Tearscope (TMH-Tc - TMH-TcR, $p < 0.001$). Asimismo, el menisco absoluto con fluoresceína (TMH-F) resultó ser un poco más alto que sin fluoresceína (TMH-CA) ($p = 0.008$).

Cuando se compararon las técnicas de LH y Tearscope entre sí, se encontró que el menisco con LH (TMH-CA) fue ligeramente mayor que el obtenido con Tearscope – Plus (TMH-Tc) ($p < 0.001$).

Tabla 32. Prueba-t para muestras relacionadas entre las variables que miden el menisco en su posición central (mm). DE: Desviación Estándar. $n = 121$. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

	Variables en comparación	Media de la diferencia	DE	P (ANOVA de un factor)
Diferencia entre las variables con lámpara de hendidura	TMH-CA - TMH-CR	0.070	0.027	<0.001
	TMH-CA - TMH-F	- 0.013	0.051	0.008
Diferencia entre las variables con Tearscope	TMH-Tc - TMH-TcR	0.066	0.023	<0.001
Diferencia entre las variables con lámpara de hendidura y Tearscope	TMH-CA - TMH-Tc	0.034	0.044	<0.001

En la **Figura 61** se muestran las gráficas de la diferencia frente a la media, junto con los IC 95% para cada comparación. El IC 95% entre el menisco absoluto (TMH-CA) y el menisco reflejo (TMH-CR) mostró que el TMH-CA podría llegar a ser 0,1 mm mayor que el TMH-CR. De la misma forma, las diferencias entre TMH-CA y el menisco con fluoresceína (TMH-F) sitúan al TMH-CA 0,087 mm superior y 0.11 mm inferior al TMH-F. Por otro lado los IC 95% entre el menisco central con LH (TMH-CA) y el Tearscope (TMH-Tc) indicaron que el TMH-CA podría ser desde 0.05 inferior hasta 0.12 mm superior el TMH-Tc. Finalmente, el IC 95% de las diferencias entre el Tearscope absoluto (TMH-Tc) y el reflejo (TMH-TcR) mostraron que el TMH-Tc podría ser 0.02 mm mayor y 0.11 menor que TMH-TcR.

También se realizó la correlación entre la media y la diferencia para verificar si las diferencias entre los parámetros eran constantes o seguían una tendencia. Los resultados mostraron que esta correlación fue significativa para cada comparación (TMH-CA con TMH-CR, $r = 0.67$, $p < 0.001$; TMH-Tc con TMH – TcR, $r = 0.71$, $p < 0.001$) y muy baja entre TMH con fluoresceína frente a TMH sin fluoresceína (TMN-

CA con TMH-F, $r = -0.21$, $p = 0.02$). Por otra parte, no se encontró ninguna correlación cuando se compararon las medidas entre los parámetros determinados con el Tearscope (TMH-CA con TMH-Tc, $r = 0.09$, $p = 0.27$), lo que indica mejor concordancia entre ellos.

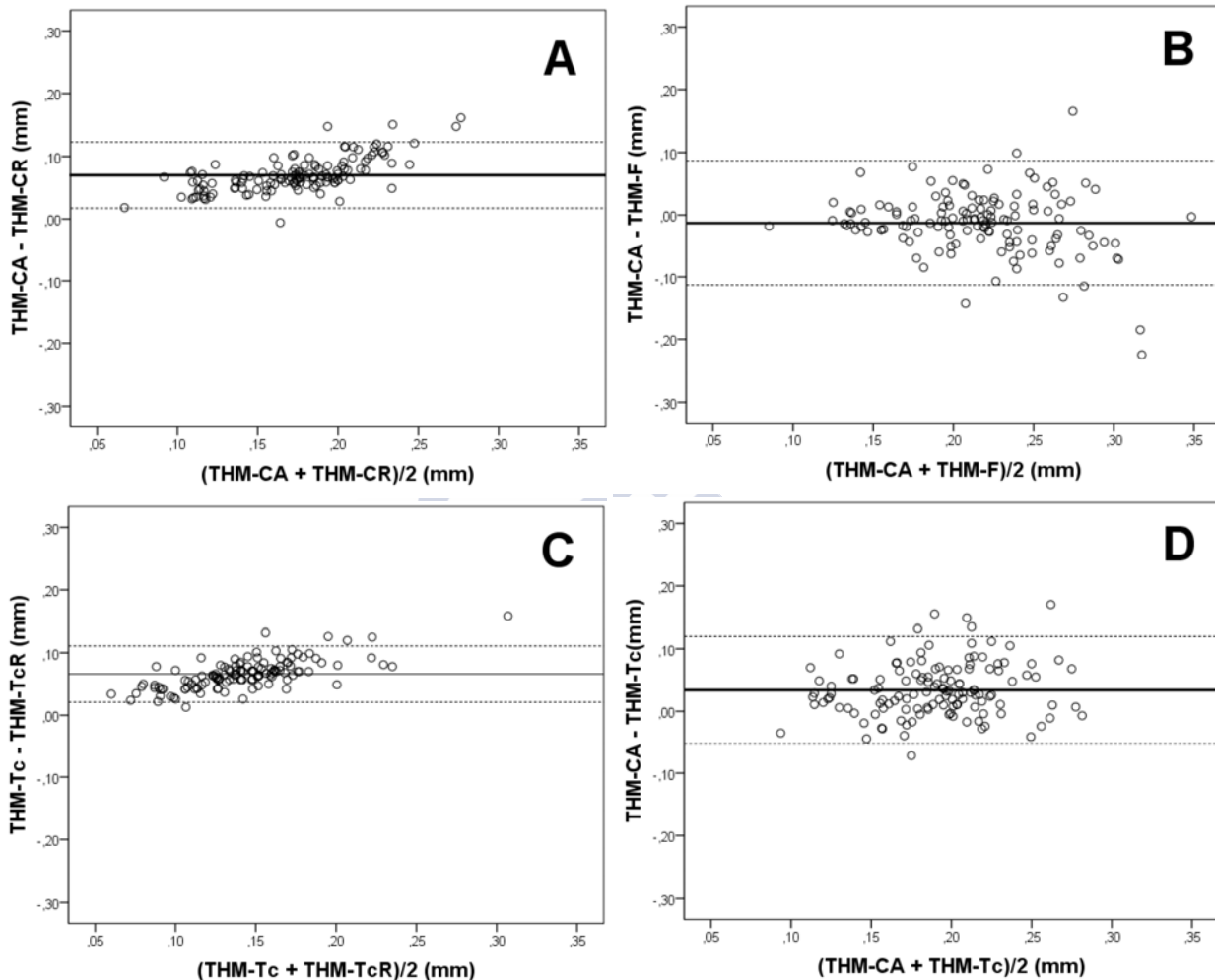


Figura 61. Gráficas de Bland y Altman de la media frente a la diferencia de los valores de la TMH para: (A) THM-CA menos THM-CR; (B) THM-CA menos THM-F; (C) THM-Tc menos THM-TcR y (D) THM-CA menos THM-Tc. También se indican la media de la diferencia (línea continua) y el IC 95% entre los parámetros de la TMH (líneas discontinuas).

5.3.2.2.2 Comparación entre parámetros del menisco central, nasal y temporal.

Las diferencias entre los meniscos central, nasal y temporal se muestran en la Tabla 33. Para las medidas absolutas, el menisco temporal resultó ser significativamente superior que el nasal (TMH-TA – TMH-NA, $p < 0.001$) y el menisco central (TMH-CA – TMH-TA, $p < 0.001$). Por el contrario, no se encontraron diferencias entre los meniscos central y temporal (TMH-CA – TMH-NA, $p = 0.904$).

Con respecto al menisco reflejo, los meniscos nasal y temporal no mostraron diferencias significativas entre ellos (TMH-TR – TMH-NR, $p = 0.07$). Por el contrario, el menisco reflejo central resultó ser estadísticamente inferior que el nasal (TMH-CR – TMH-NR, $p < 0.001$) (Figura 5F) y el temporal (TMH-CR – TMH-TR, $p < 0.001$) (Figura 5E).

En la **Figura 62** se muestran las gráficas de la media frente a la diferencia para cada comparación, junto con los respectivos IC 95%. Cuando se compararon los parámetros absolutos, el menisco central (TMH-CA) y nasal (TMH-NA) mostraron que el TMH-CA podría ser 0,08 mm mayor y menor que el TMH-NA; de la misma forma la TMH-CA y el menisco temporal (TMH-TA) situó a la TMH-CA 0.05 mm por encima y 0.09 mm por debajo que TMH-TA. finalmente los IC 95% entre el menisco nasal (TMH-NA) y temporal (TMH-TA) mostraron que la TMH-NA podría ser 0,05 mm mayor y 0,09 mm menor que la TMH-TA.

Cuando se realizó la misma comparación con el menisco reflejo, los IC 95% indicaron que el menisco central reflejo (TMH-CR) podría ser 0.05 mm mayor y 0.07 mm menor que el menisco nasal reflejo (TMH-NR); mientras TMH-CR mostró un valor 0.048 mm mayor y un 0.08 menor que el menisco reflejo temporal (TMH-TR); y finalmente el IC 95% entre los meniscos nasal (TMH-NR) y temporal (TMH-TR) mostraron que el TMH-NR podría ser 0.05 mm mayor y 0.06 mm menor que la TMH-TR.

Las correlaciones entre la media y la diferencia no fueron significativas ni cuando se comparaban los parámetros del TMH absolutos entre sí (TMN-CA con TMH-NA, $r = 0,09$, $p = 0,30$; TMN-CA con TMH-TA, $r = 0,12$, $p = 0,18$; TMN-NA con TMH-TA, $r = -0,05$, $p = 0,55$) ni cuando se comparaban los parámetros del TMH reflejo (TMN-CR con TMH-NR, $r = -0,10$, $p = 0,24$; TMN-CR con TMH-TR, $r = -0,04$, $p = 0,62$; TMN-NR con TMH-TR, $r = -0,07$, $p = 0,44$), lo que indica una tendencia constante de las diferencias.

Tabla 33. Prueba-t para muestras relacionadas entre las variables que miden el menisco en su posición nasal y temporal con lámpara de hendidura (mm). Desviación Estándar. $n = 121$. TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura.

	Variables en comparación	Media de la diferencia	DE	P (ANOVA de un factor)
Menisco absoluto	TMH-CA - TMH-NA	- 0.0004	0.041	0.904
	TMH-CA - TMH-TA	- 0.021	0.037	<0.001
	TMH-TA - TMH-NA	0.021	0.038	<0.001
Menisco reflejo	TMH-CR - TMH-NR	- 0.011	0.033	<0.001
	TMH-CR - TMH-TR	- 0.017	0.033	<0.001
	TMH-TR - TMH-NR	0.005	0.030	0.066

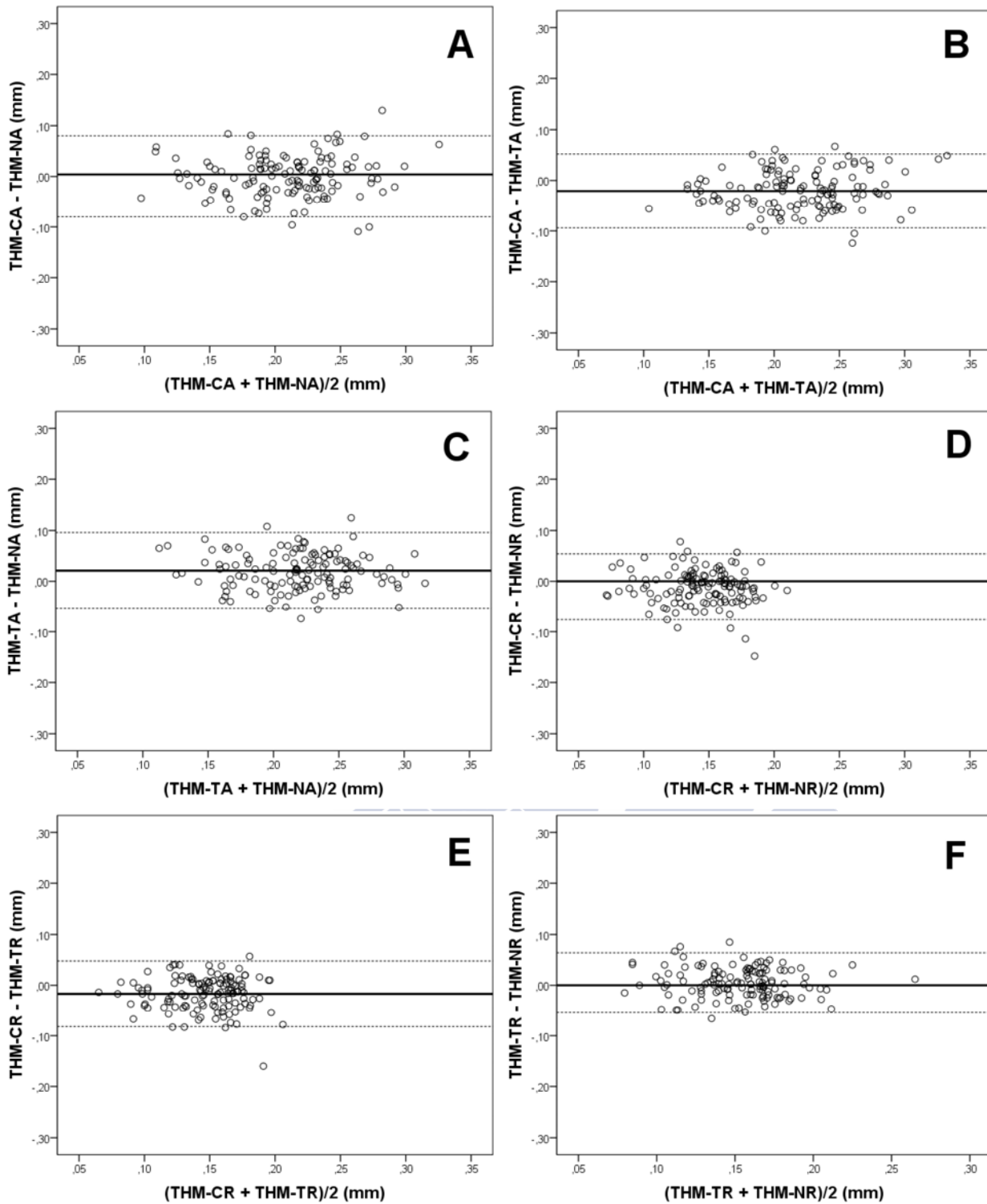


Figura 62. Gráficas de Bland y Altman de la media frente a la diferencia de los valores de la TMH para: (A) THM-CA and THM-NA; (B) THM-CA and THM-TA; (C) THM-TA and THM-NA; (D) THM-CR and THM-NR; (E) THM-CR and THM-TR ; (F) THM-TR and THM-NR. También se indican la media de la diferencia (línea continua) y el IC 95% entre los parámetros de la TMH (líneas discontinuas).

5.3.2.2.3 Evaluación subjetiva del menisco lagrimal.

Valoración subjetiva con imágenes del menisco iluminadas con lámpara de hendidura.

Del total de los 121 pacientes estudiados, 78 presentaban un menisco intacto (64.5%, grado 1), 31 un menisco ligeramente disminuido (25.62%, grado 2), 10 un menisco marcadamente disminuido o discontinuo (8.26%, grado 3) y 2 un menisco ausente (1,65%, grado 4).

En la Tabla 34 se muestra el valor medio de todos los parámetros objetivos de la TMH divididos en cada uno de los grupos subjetivos. Asimismo, mediante un ANOVA de un factor, se calcularon las diferencias de cada uno de los parámetros objetivos del TMH entre todos los grupos subjetivos, resultando en diferencias estadísticamente significativas de todos los parámetros del TMH (en todos los casos $p \leq 0,001$).

Tabla 34. Valores promedio de la TMH encontrados para cada uno de los grupos subjetivos con las imágenes adquiridas con lámpara de hendidura (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TR, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

	Variable	Grado 1: Intacto (n = 78)	Grado 2: Ligeramente disminuido (n = 31)	Grado 3: Marcadamente disminuido / discontinuo (n = 10)	Grado 4: Ausente (n = 2)	P (ANOVA de un factor)
Menisco absoluto con lámpara de hendidura	TMH-CA	0.232	0.181	0.145	0.100	<0.001
	TMH-TA	0.243	0.214	0.200	0.137	<0.001
	TMH-NA	0.223	0.195	0.162	0.131	<0.001
Menisco reflejo con lámpara de hendidura	TMH-CR	0.154	0.121	0.094	0.076	<0.001
	TMH-TR	0.164	0.145	0.135	0.097	<0.001
	TMH-NR	0.161	0.138	0.118	0.115	<0.001
Menisco con fluoresceína y lámpara de hendidura	TMH-F	0.243	0.191	0.171	0.085	<0.001
Menisco absoluto con Tearscope	TMH-Tc	0.188	0.159	0.140	0.133	<0.001
Menisco reflejo con Tearscope	TMH-TcR	0.116	0.101	0.095	0.083	0.001

Con el fin de verificar las diferencias de los parámetros objetivos entre cada par de grados subjetivos se realizó el test post hoc Tukey. Se encontró que todos los parámetros objetivos del menisco fueron estadísticamente diferentes cuando se compararon los meniscos intactos (grado 1) frente a los ligeramente disminuidos (grado 2) y marcadamente disminuidos (grado 3) (todos los parámetros $p \leq 0.003$), siguiendo una tendencia lógica, es decir, peor categorización subjetiva estaba relacionada con un menor valor de TMH. Cuando se compararon los parámetros del menisco entre los grados 2 y 3, el test Tukey mostró que sólo existían diferencias significativas para el menisco central absoluto (TMH-CA) y central reflejo (TMH-CR), siendo los parámetros del grado 2 mayores que los del grado 3 (ambos parámetros $p \leq 0.04$). Por otro lado, los meniscos del grado 4 (menisco ausente) mostraron diferencias significativas con los del grado 1 y grado 2 en todos los parámetros objetivos (todos los parámetros, $p \leq 0.028$) excepto en los parámetros del Tearscope (TMH-Tc y TMH-TcR; todos los parámetros $p \geq 0.234$). Finalmente, no se encontraron diferencias significativas entre los meniscos del grado 3 y 4 para ningún parámetro (en todos, $p > 0,05$).

Posteriormente, los cuatro grados subjetivos del menisco se reagruparon en dos atendiendo a la gravedad del menisco, donde el primer grupo denominado “*menisco sano/normal*” englobarían los grados 1 y 2, y el segundo grupo denominado “*menisco anormal*” estaría formado por los grados 3 y 4. Con esta nueva clasificación se encontró que 110 sujetos (90.9%) formaban el grupo de meniscos sanos, mientras que 11 casos (9.1%) formaban el grupo de meniscos anormales. En la Tabla 35 se muestra el valor medio de todos los parámetros del TMH obtenidos para el grupo de meniscos sanos y de meniscos anormales. Todos los parámetros mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, siendo mayores los valores de TMH del grupo normal/sano con respecto al grupo de menisco anormal (ANOVA de un factor; en todos los parámetros $p \leq 0.03$).

Tabla 35. Parámetros de la TMH agrupados en meniscos sanos y anormales según la clasificación subjetiva con las imágenes adquiridas con lámpara de hendidura (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

	Variable	Menisco sano (n = 110)	Menisco anormal (n = 11)	P (ANOVA de un factor)
Menisco absoluto con lámpara de hendidura	TMH-CA	0.217	0.138	<0.001
	TMH-TA	0.235	0.190	0.001
	TMH-NA	0.215	0.157	<0.001
Menisco reflejo con lámpara de hendidura	TMH-CR	0.144	0.091	<0.001
	TMH-TR	0.158	0.137	0.024
	TMH-NR	0.154	0.111	<0.001
Menisco con fluoresceína y lámpara de hendidura	TMH-F	0.229	0.161	0.003
Menisco absoluto con Tearscope	TMH-Tc	0.180	0.136	0.012
Menisco reflejo con Tearscope	TMH-TcR	0.112	0.085	0.030

Valoración subjetiva con imágenes del menisco iluminadas con Tearscope-Plus

Cuando se analizaron las imágenes con el Tearscope, se encontró que del total de los 121 pacientes estudiados, 78 presentaban un menisco intacto (64.5%, grado 1), 34 un menisco ligeramente disminuido (28%, grado 2), 6 un menisco marcadamente disminuido o discontinuo (4.96%, grado 3) y 3 un menisco ausente (2,48%, grado 4).

En la Tabla 36 se muestra el valor medio de todos los parámetros objetivos de la TMH divididos en cada uno de los grupos subjetivos iluminados con Tearscope. De forma similar que el caso de las imágenes iluminados con LH, todos los parámetros objetivos del TMH mostraron diferencias significativas entre los grupos subjetivos (ANOVA de un factor, en todos los casos $p \leq 0,005$).

Tabla 36. Valores promedio de la TMH encontrados para cada uno de los grupos subjetivos con las imágenes adquiridas con Tearscope_Plus (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

	Variable	Grado 1: Intacto (n = 78)	Grado 2: Ligeramente disminuido (n = 34)	Grado 3: Marcadamente disminuido / discontinuo (n = 6)	Grade 4: Ausente (n = 3)	P (ANOVA de un factor)
Menisco absoluto con lámpara de hendidura	TMH-CA	0.220	0.199	0.169	0.116	< 0.001
	TMH-TA	0.237	0.228	0.201	0.141	0.001
	TMH-NA	0.216	0.206	0.169	0.146	0.005
Menisco reflejo con lámpara de hendidura	TMH-CR	0.147	0.130	0.121	0.074	< 0.001
	TMH-TR	0.158	0.155	0.145	0.094	0.004
	TMH-NR	0.155	0.147	0.128	0.095	0.003
Menisco con fluoresceína y lámpara de hendidura	TMH-F	0.269	0.191	0.184	0.124	< 0.001
Menisco absoluto con Tearscope	TMH-Tc	0.188	0.158	0.127	0.119	< 0.001
Menisco reflejo con Tearscope	TMH-TcR	0.118	0.099	0.072	0.078	< 0.001

El test post hoc Tukey mostró que los dos parámetros del Tearscope (TMH-Tc y TMH-TcR), se encontraron diferencias significativas al comparar el grado 1 con los restantes grados (ambos parámetros, $p \leq 0,028$), aunque no se encontraron diferencias significativas cuando se comparaban los grados 2, 3 y 4 entre sí (ambos parámetros, $p \geq 0,3$). Con respecto a los parámetros obtenidos con LH, se encontró que cuando se comparan los grados 1 y 2, sólo habían diferencias significativas en los parámetros de menisco central, es decir, menisco central absoluto (TMH-CA), reflejo (TMH-CR) y con fluoresceína (TMH-F), (todos los parámetros, $p \leq 0,02$). Entre los grados 1 y 3 las diferencias sólo fueron significativas en el menisco central absoluto (TMH-CA) y nasal absoluto (TMH-NA) (en ambos parámetros $p \leq 0,05$). No hubo ninguna diferencia entre los grados 2 y 3 para ningún parámetro (para todos, $p > 0,05$). Finalmente, el grado 4 mostró diferencias con el grado 1 en todos los parámetros (para todos, $p \leq 0,032$) y con el grado 2 en los parámetros menisco central absoluto (TMH-CA) y temporal absoluto (TMH-TA) (en ambos, $p \leq 0,015$). Finalmente, no se encontraron diferencias significativas entre los meniscos del grado 3 y 4 para ningún parámetro (en todos, $p > 0,05$).

De la misma forma que se realizó con los meniscos obtenidos con LH, los cuatro grupos subjetivos se reagruparon en los dos grupos “*meniscos sanos/normales*” y el grupo “*meniscos anormales*”. En este caso se encontró que 112 sujetos (92,56%) mostraban un menisco sano y 9 casos (7,43%) mostraban un menisco anormal cuyos valores medios se muestran en la Tabla 37. De la misma forma que con las imágenes de LH, todos los parámetros mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, siendo mayores los valores de TMH del grupo normal/sano con respecto al grupo de menisco anormal (ANOVA de un factor; en todos los parámetros $p \leq 0.017$).

Tabla 37. Parámetros de la TMH agrupados en meniscos sanos y anormales según la clasificación subjetiva con las imágenes adquiridas con el Tearscope-Plus (mm). TMH-CA, altura absoluta del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-TA, altura absoluta del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-NA, altura absoluta del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-CR, altura del reflejo del menisco lagrimal central con lámpara de hendidura; TMH-RT, altura del reflejo del menisco lagrimal temporal con lámpara de hendidura; TMH-RN, altura del reflejo del menisco lagrimal nasal con lámpara de hendidura; TMH-F, altura absoluta del menisco lagrimal central con fluoresceína y lámpara de hendidura; TMH-Tc, Altura absoluta del menisco lagrimal central con Tearscope y TMH-TcR Altura absoluta del reflejo del menisco lagrimal central con Tearscope.

	Variable	Menisco sano (n = 112)	Menisco anormal (n = 9)	P (ANOVA de un factor)
Menisco absoluto con lámpara de hendidura	TMH-CA	0.214	0.151	< 0.001
	TMH-TA	0.234	0.185	0.001
	TMH-NA	0.213	0.162	0.001
Menisco reflejo con lámpara de hendidura	TMH-CR	0.141	0.105	0.001
	TMH-TR	0.157	0.128	0.006
	TMH-NR	0.153	0.117	0.002
Menisco con fluoresceína y lámpara de hendidura	TMH-F	0.225	0.177	0.017
Menisco absoluto con Tearscope	TMH-Tc	0.179	0.124	< 0.001
Menisco reflejo con Tearscope	TMH-TcR	0.111	0.074	< 0.001

5.3.3 Correlación entre la osmolaridad de impedancia eléctrica (Tear Lab) y la altura del menisco lagrimal en relación a la sintomatología

Uno de los principales dilemas cuando se pretende realizar el diagnóstico del SOS es la escasa correlación entre los test de la PL,^{23, 218} así como la falta de correlación entre los signos y los síntomas de ojo seco.⁷⁰

La hiperosmolaridad induce un aumento de la evaporación y reduce el volumen lagrimal. Dado que el menisco lagrimal contiene el 75–90% del volumen total de la PL,¹ cualquier reducción de la TMH debería indicar un aumento en la osmolaridad de la PL.

El objetivo de este estudio es evaluar la relación entre la TMH y la osmolaridad utilizando el osmómetro de impedancia eléctrica TearLab.

También se comparó la interpretación subjetiva del menisco con las medidas objetivas de la TMH y la osmolaridad. Asimismo, se realizó un análisis cluster para determinar los efectos de la edad y los síntomas en las correlaciones observadas.

5.3.3.1 Procedimiento experimental

Para este estudio se reclutaron 177 pacientes (78 varones y 99 mujeres) de edad promedio 25.92 ± 12.03 años (de 18 a 65 años) provenientes del protocolo general, cuyas características y criterios de exclusión se han descrito anteriormente (**capítulo 4 material y métodos**).

A todos los sujetos que formaban parte del estudio se les había determinado en el protocolo general una serie de pruebas de la PL, donde el procedimiento y orden de las mismas se detallan en el **capítulo 4 material y métodos**. Los parámetros que se incluyen en este estudio fueron los siguientes:

- Determinación de la sintomatología del paciente mediante los cuestionarios estandarizados McMonnies y OSDI. Donde se consideró el valor de corte para tener SOS una puntuación ≥ 13 para el OSDI y $\geq 14,5$ para el McMonnies.
- Osmolaridad de la PL con el osmómetro TearLab.
- Adquisición en vídeo del menisco lagrimal con LH. Una vez obtenidos los vídeos del menisco, se extrajeron las imágenes del menisco lagrimal iluminadas con LH y se evaluaron de forma objetiva y subjetiva (una descripción más extensa está en el **capítulo 4 material y métodos**).
 - o *Menisco objetivo*: sólo se consideró la TMH absoluta central con LH (TMH-CA), que para abreviar en este estudio se denotará sólo como TMH.
 - o *Menisco subjetivo*: Se evaluaron las imágenes del menisco central con LH mediante el esquema indicado en la tabla (**capítulo 4 material y métodos**)

5.3.3.2 Resultados

Para examinar la correlación entre la osmolaridad y la TMH así como la influencia de la edad y los síntomas en esta correlación, se realizó un análisis cluster en tres conjuntos de datos:

- *Muestra general del estudio*: 177 sujetos ($n = 177$).
- *Estratificación por edad*: ≤ 25 años ($n = 88$); de 25 a 45 años ($n = 67$); y ≥ 45 años ($n = 22$).

- *Estratificación por síntomas:* sujetos cuya puntuación indicaba SOS en ambos cuestionarios (n = 104); sujetos cuya puntuación era indicativo de SOS en uno de los dos cuestionarios (n = 40); y sujetos cuya puntuación indicaba ojo sano en ambos cuestionarios (n = 33).

Las correlaciones se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson para las variables paramétricas y la ρ de Spearman para las no paramétricas. Las correlaciones entre variables se clasificaron en débil (0.2 – 0.4), moderada (0.4 – 0.6), buena (0.61 – 0.8), y fuerte (0.8 – 1.0).

5.3.3.2.1 Muestra general del estudio

En la Tabla 38 se muestran los estadísticos descriptivos de los parámetros de la PL obtenidos en la toda la muestra de estudio (n = 177).

Tabla 38. Estadísticos descriptivos. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil. n = 177

	Media / Mediana	DE / IQR	Mínimo	Máximo
McMonnies	6,00	3,00 - 13,00	0,00	33,00
OSDI	8,33	4,17 - 17,71	0,00	64,58
Osmolaridad	305,68	14,37	275,00	357,00
TMH objetivo	0,20	0,06	0,06	0,36
Menisco subjetivo	1,00	1,00 - 2,00	1,00	4,00

Según la valoración subjetiva, la mayoría de los sujetos mostraron un menisco intacto (grado 1) o ligeramente disminuido (grado 2). Se detectó un menisco anormal en 29 sujetos, de los cuales 27 fue descrito como marcadamente disminuido o discontinuo y en 2 sujetos el menisco era ausente.

En la **Figura 63** se muestra la correlación entre la osmolaridad y la valoración objetiva y subjetiva del menisco lagrimal. La osmolaridad mostró una correlación moderada y negativa con la TMH ($r = - 0,41$, $p < 0,001$) y una correlación débil y positiva con la valoración subjetiva del menisco ($r = 0,35$, $p < 0,001$). Como era de esperar, los resultados mostraron una correlación fuerte y negativa entre la TMH y la calidad del menisco ($r = - 0.75$, $p < 0.001$) indicando que cuanto peor es la percepción subjetiva del menisco mayor es el valor objetivo de TMH.

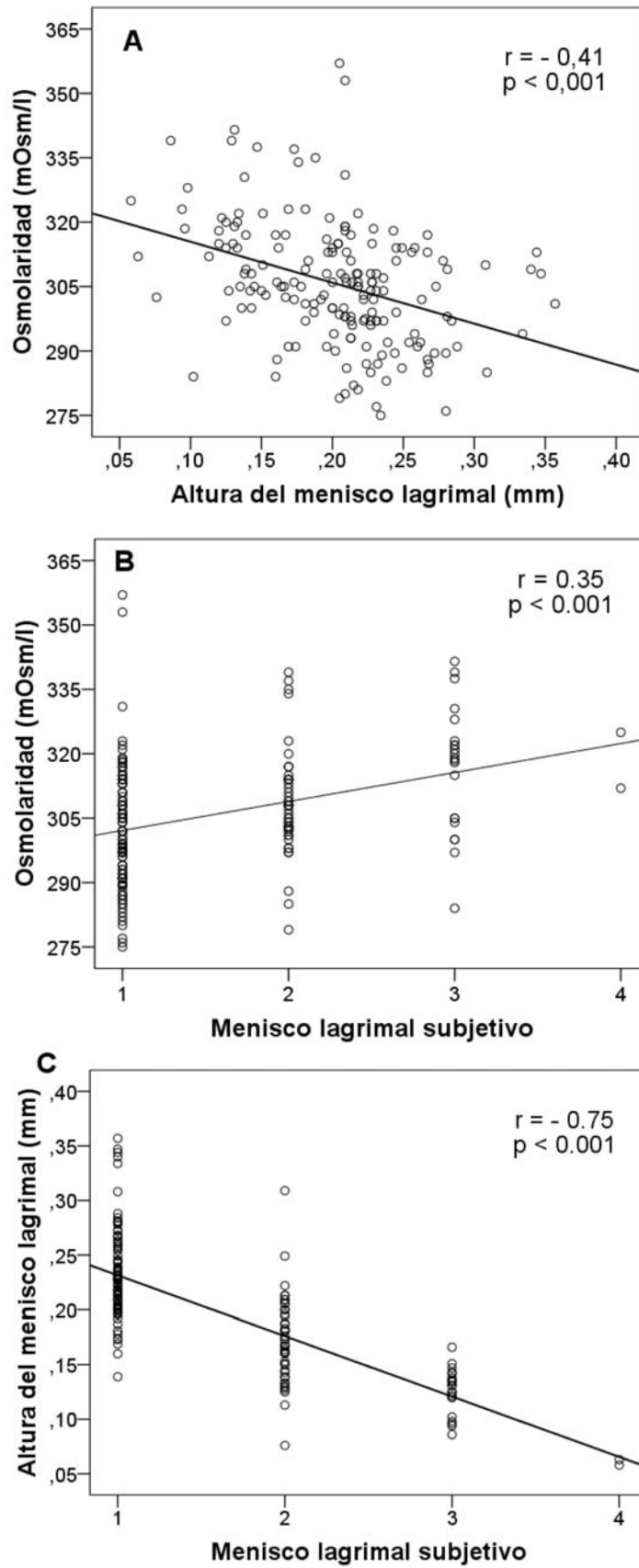


Figura 63. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en la muestra general de estudio. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

5.3.3.2.2 Estratificación por edad

En la Tabla 39 se muestran los estadísticos descriptivos para los sujetos estratificados por edad en tres grupos. Tal como ocurrió en la muestra general, la osmolaridad mostró una correlación significativa tanto con el menisco subjetivo como con el valor objetivo de la TMH en cada rango de edad.

Tabla 39. Estadísticos descriptivos para los grupos estratificados por rango de edad. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil.

Rango de edad	≤ 20 años n = 88		Entre 20 y 45 años n = 67		≥ 45 años n = 22	
	Media / Mediana	DE / IQR	Media / Mediana	DE / IQR	Media / Mediana	DE / IQR
Edad	18,93	0,85	30,83	6,39	54,18	6,27
McMonnies	4,50	3,00 - 7,00	6,00	4,00 - 12,00	20,00	15,00 - 27,25
OSDI	8,33	4,17 - 12,50	10,42	4,17 - 18,75	31,25	16,66 - 43,23
Osmolaridad	303,93	15,76	304,80	12,01	315,41	11,55
TMH	0,21	0,05	0,20	0,051	0,18	0,08
Menisco subjetivo	1,00	1,00 - 2,00	1,00	1,00 - 2,00	2,00	1,00 - 3,00

Con respecto a la medida objetiva de la TMH, en todos los grupos la osmolaridad mostró una correlación negativa con la TMH que aumentaba con la edad. De echo, la correlación era débil en el grupo más joven ($r = - 0,28$, $p = 0,01$) (**Figura 64A**) y moderada para los grupos de más edad (25 a 45 años, $r = - 0,40$, $p=0.001$, y > 45 años, $r = - 0.52$, $p = 0,014$, (**Figura 65A** y **Figura 66A**)).

Con respecto a la valoración subjetiva del menisco, la correlación entre la osmolaridad y la calidad del menisco resultó ser desde débil hasta una correlación buena dependiendo del grupo de edad (desde $r = 0,27$ para ≤ 20 años a $r = 0,63$ para ≥ 45 years, en todos los casos $p < 0.012$) (**Figura 64B**, **Figura 65B** y **Figura 66C**).

Cuando se examinaron la TMH objetiva y la valoración subjetiva del menisco, se observó una correlación significativa ($p < 0.001$ in todos los casos) desde una buena correlación (de $r = - 0,69$ para sujetos ≤ 20 años a $r = - 0.75$ para sujetos entre 20 y 45 años) (**Figura 66C**) a fuerte ($r = - 0.90$ para sujetos ≥ 45 años) (**Figura 64C** y **Figura 65C**), de forma que a mayor edad la correlación aumentaba.

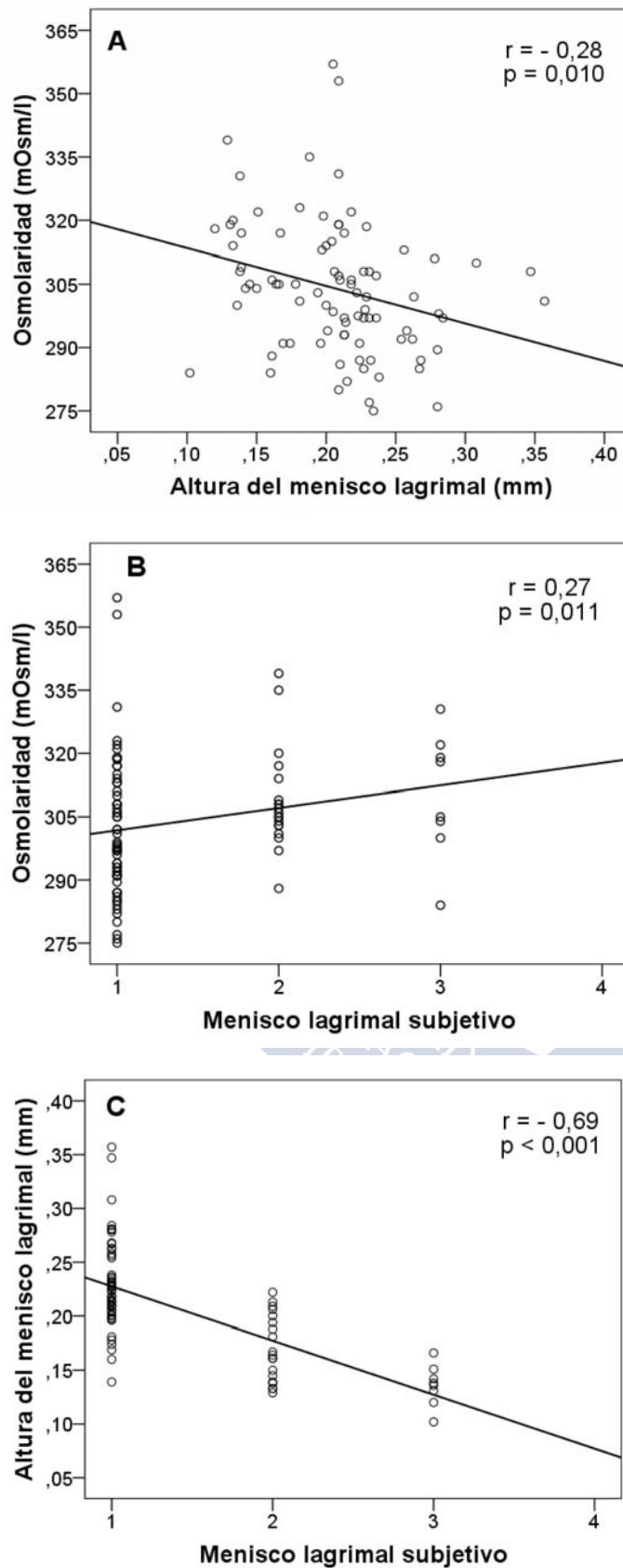


Figura 64. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos de edad ≤ 20 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

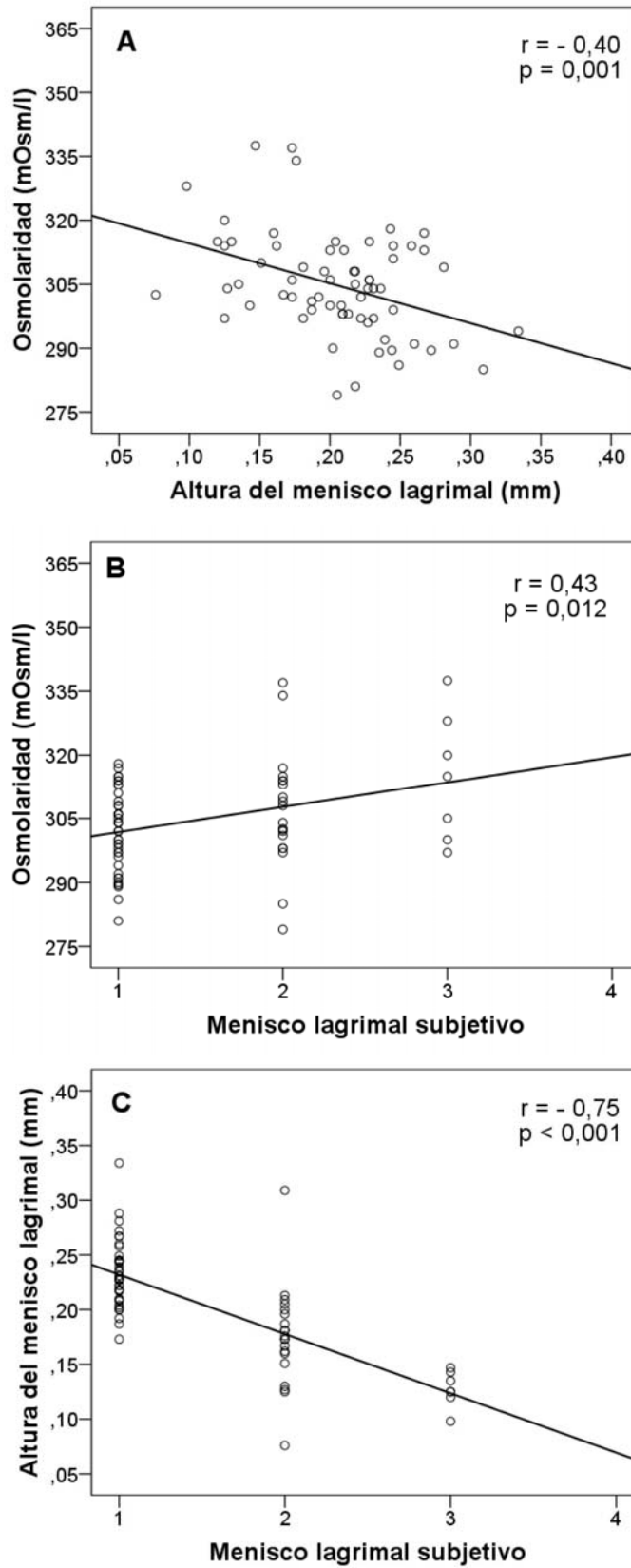


Figura 65. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos entre 25 y 45 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

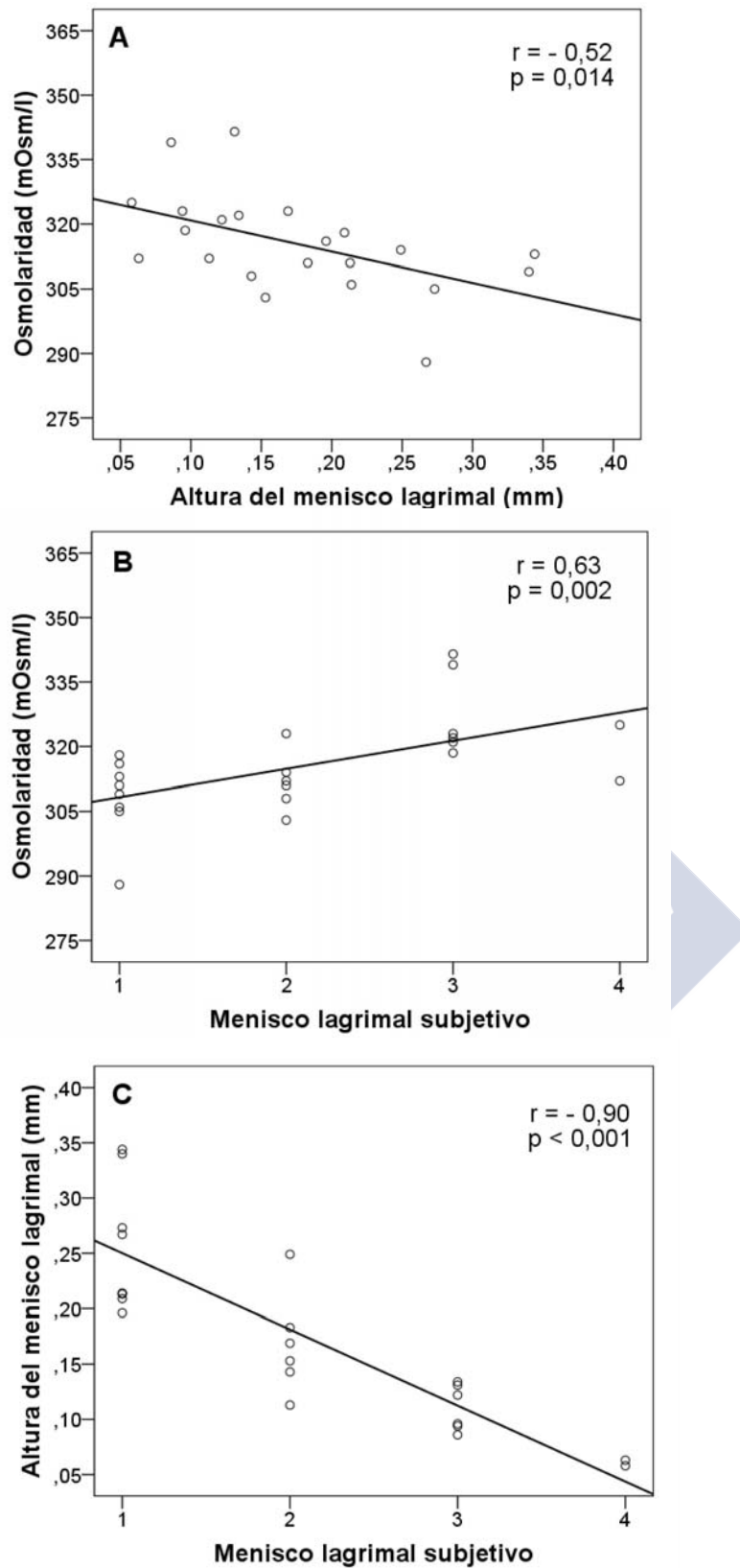


Figura 66. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos > 45 años. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

5.3.3.2.3 Estratificación por síntomas

Los estadísticos descriptivos para los sujetos estratificados de acuerdo a las puntuaciones de los cuestionarios estandarizados OSDI y McMonnies se muestran en la Tabla 40.

Tabla 40. Estadísticos descriptivos para los grupos estratificados por síntomas. La puntuación de los cuestionarios de SOS (McMonnies y OSDI) y valoración subjetiva del menisco son parámetros sin dimensiones. La osmolaridad se indica en mOsm/L y la TMH objetiva en mm. Medias y DE se proporcionan para variables paramétricas y las medianas y el IQR para variables no paramétricas. DE = desviación estándar. IQR = rango intercuartil.

Síntomatología	No falla ningún cuestionario n = 104		Falla un cuestionario n = 40		Falla los dos cuestionarios n = 33	
	Media / Mediana	DE / IQR	Media / Mediana	DE / IQR	Media / Mediana	DE / IQR
Edad	20,81	3,64	25,93	12,60	42,03	14,37
McMonnies	4,00	3,00 - 6,00	10,00	6,00 - 13,00	17,00	15,00 - 25,50
OSDI	6,25	2,08 - 8,33	16,67	14,58 - 22,92	29,17	19,79 - 40,63
Osmolaridad	302,26	14,17	308,60	14,75	312,92	11,04
TMH	0,21	0,05	0,20	0,06	0,15	0,07
Menisco subjetivo	1,00	1,00 - 2,00	2,00	1,00 - 2,00	2,00	1,00 - 3,00

Las Figuras 67 a 69 ilustran las correlaciones entre las variables examinadas en cada uno de los tres grupos de síntomas. De la misma forma, los valores de la TMH objetiva frente a la osmolaridad, así como la TMH objetiva y la valoración subjetiva del menisco mostraron una correlación negativa, mientras que la correlación entre la osmolaridad y la valoración subjetiva del menisco mostró una correlación positiva.

Para los sujetos no sintomáticos (las puntuaciones en ambos cuestionarios indican ausencia de SOS) la correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco resultaron ser muy débiles tanto para la TMH objetiva ($r = - 0,19$, $p = 0,049$) (Figura 67A) como la valoración subjetiva ($r = 0,08$, $p = 0,4$) (Figura 67B). En sujetos con sintomatología leve (las puntuaciones en un cuestionario indicaban SOS), esta relación era moderada en ambas comparaciones, ($r = - 0,48$, $p = 0,002$ para la osmolaridad frente a la TMH objetiva; y $r = 0,51$, $p < 0,001$ para la osmolaridad frente a la valoración subjetiva del menisco) (Figura 68A y Figura 68B). Finalmente, cuando sólo se consideraron sujetos muy sintomáticos (las puntuaciones en ambos cuestionarios indicaban SOS), las correlaciones de la osmolaridad con la medida de la TMH objetiva ($r = - 0,52$, $p = 0,002$, Figura 69A) y la valoración subjetiva del menisco ($r = 0,64$, $p < 0,001$, Figura 69B) eran aún mayores que en sujetos con sintomatología leve.

Las correlaciones entre los valores objetivos de la TMH y la valoración subjetiva del menisco resultó buena para los sujetos no sintomáticos ($r = - 0,60$, $p < 0,001$) (Figura 67C), y fuerte en aquellos que mostraron de sintomatología leve a moderada ($r = - 0,81$, $p < 0,001$ o $r = - 0,90$, $p < 0,001$ respectivamente, Figura 68C y Figura 69C). Por lo tanto, las correlaciones se hicieron más fuertes a medida que aumentaban los síntomas de los sujetos.

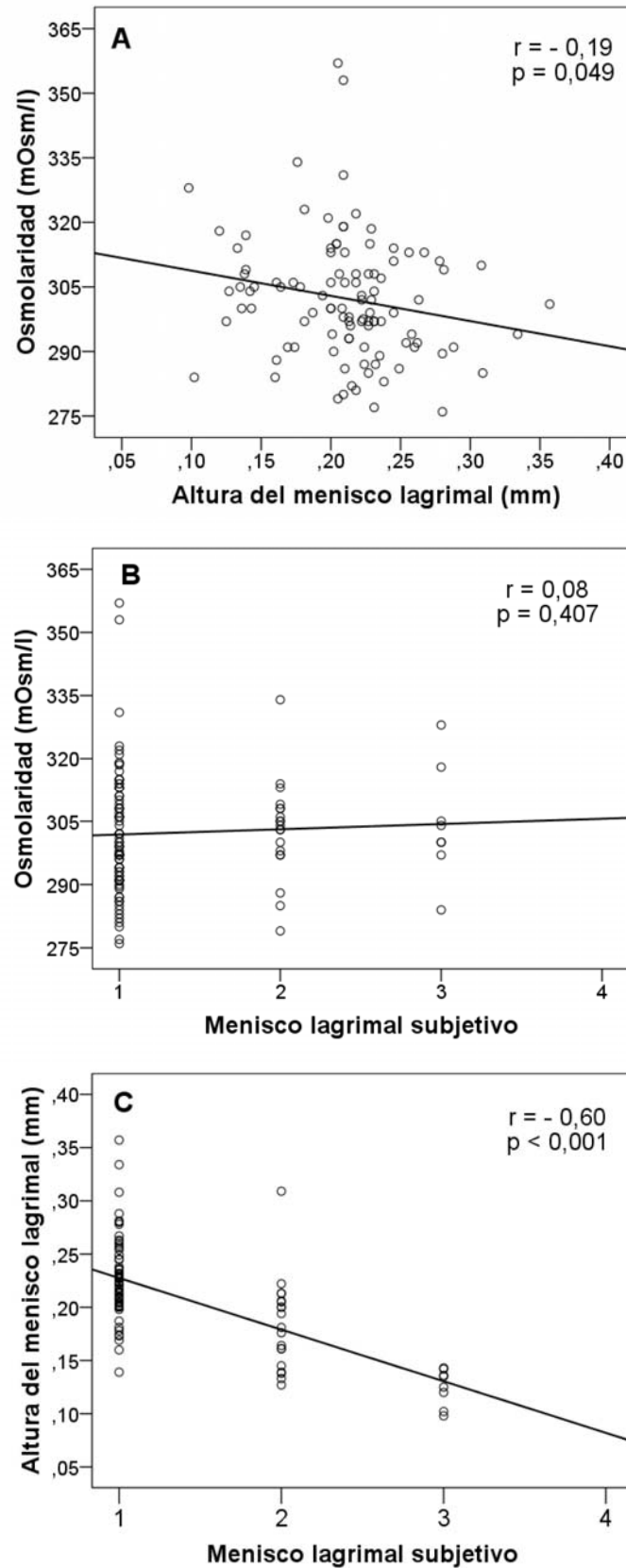


Figura 67. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en los cuestionarios indicaron ojo sano. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

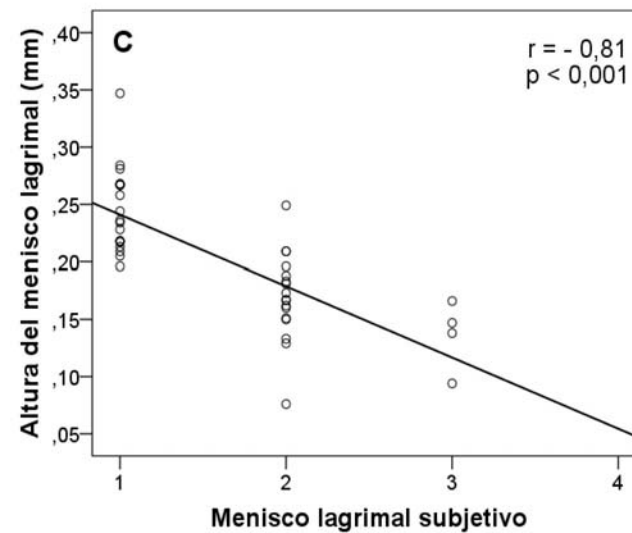
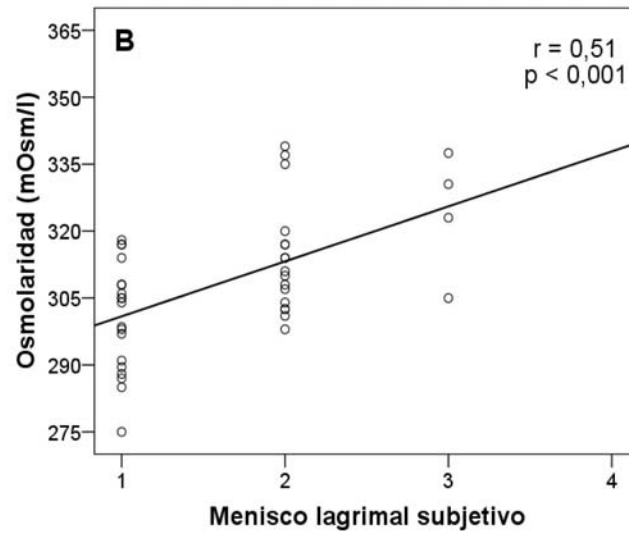
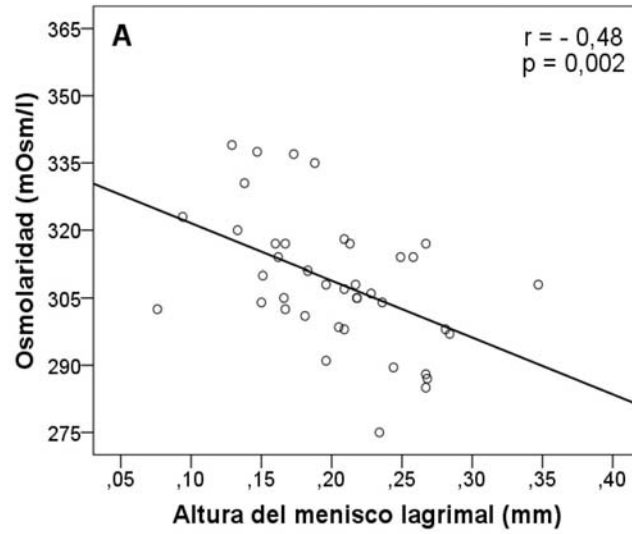


Figura 68. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en un cuestionarios indicaron ojo seco. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetivo del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco

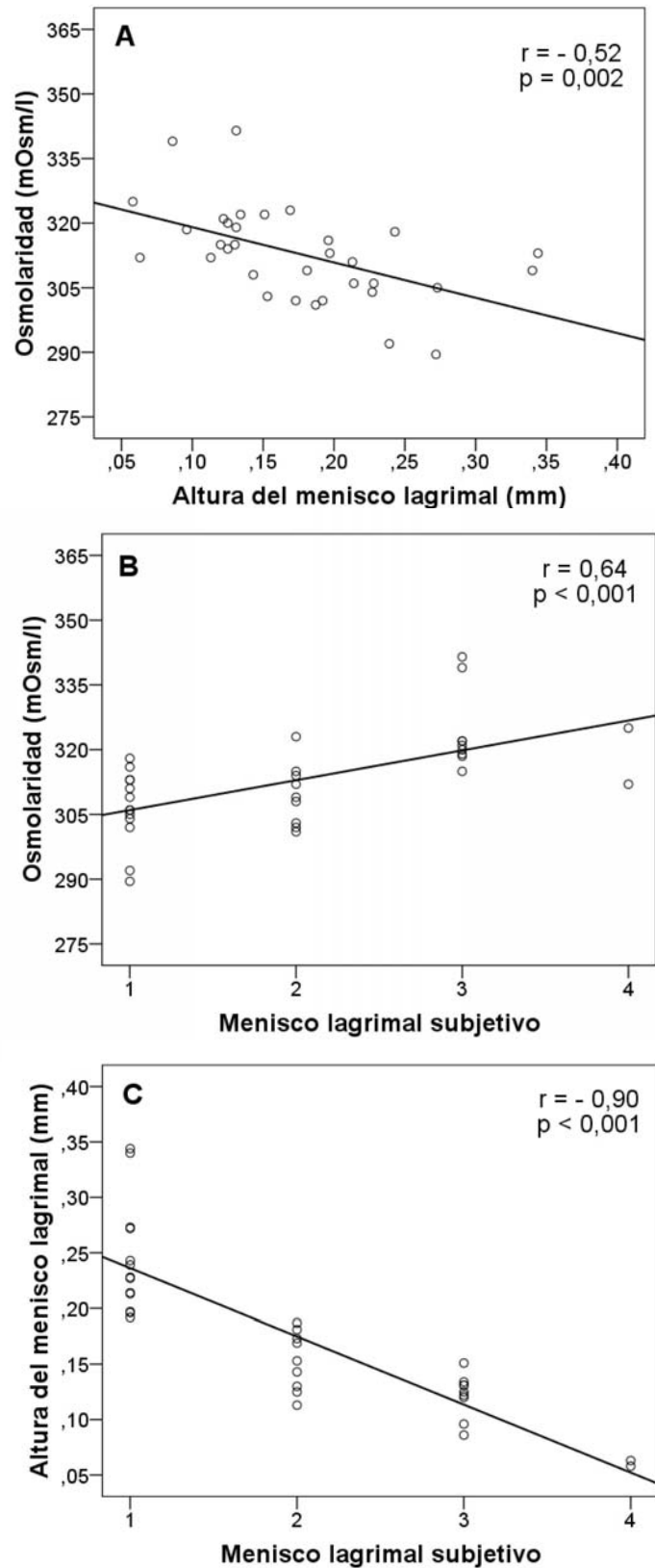


Figura 69. Correlación entre la osmolaridad y las variables del menisco lagrimal en sujetos cuyas puntuaciones en los dos cuestionarios indicaron ojo seco. A) Correlación entre osmolaridad y TMH, B) Correlación entre osmolaridad y valoración subjetiva del menisco, C) Correlación entre TMH y valoración subjetiva del menisco



6 DISCUSIÓN





6.1 ESTUDIO DE LA CAPA LIPÍDICA DE LA PELÍCULA LAGRIMAL

La capa lipídica lagrimal juega un papel esencial en la homeostasis de la superficie ocular. Entre muchas de sus funciones, la capa lipídica proporciona una superficie corneal ópticamente lisa, aumenta la difusión de la película lagrimal e impide que se produzca el desborde de la lágrima desde el borde del párpado.²¹⁰ Además, su función principal es la de actuar como una barrera hidrofóbica exterior para evitar la evaporación de la fase acuosa.⁴¹ De echo, los ojos con una capa lipídica ausente o inestable pueden mostrar una tasa de evaporación lagrimal.³

Mediante el Tearscope, se puede evaluar el espesor de la capa de lípidos en base a fenómenos de interferencia producidos por toda la superficie corneal. Aunque el Tearscope ha demostrado su validez¹⁴³ se necesita entrenamiento para interpretar las correctamente los PLIs. Así, según Nichols et al¹⁴³ establecieron que existía una "curva de aprendizaje" para la categorización del PLI con el Tearscope. Esta dificultad en la interpretación de los PLIs (especialmente los patrones más delgados) y la falta de un banco de imágenes extenso de los PLIs con el fin de servir de referencia ha provocado que muchos profesionales de la visión abandonaron esta prueba.

6.1.1 Repetibilidad intersección del análisis subjetivo del patrón lipídico interferencial

En este estudio se compara la evaluación de los PLIs entre dos observadores con experiencia en un grupo de pacientes sanos, evaluando su propia variabilidad en la categorización con el tiempo (*evaluación intraobservador*) y la diferencia de la categorización entre ellos (*evaluación interobservador*). Ambos observadores tienen experiencia y entrenamiento en el uso del Tearscope y categorización de los PLIs (más de diez años practicando en esta técnica). Sin embargo, este trabajo muestra que incluso con un alto nivel de experiencia en esta área, todavía hay algunas lagunas o falta de conocimiento que se necesita mejorar. La categorización de los PLIs es una tarea difícil que requiere la formación y comprensión de los aspectos clínicos relacionados con el aspecto de la capa lipídica.

En los resultados se encontró que los estadísticos kappa mostraron una fiabilidad *sustancial* en la comparación entre observadores, mientras que en la comparación de cada observador contra sí mismo (*análisis intraobservador*) esta fiabilidad resultó ser de *sustancial a perfecta* (Tabla 4 y Tabla 7). Sin embargo, aunque esta concordancia *intraobservador* e *interobservador* fue alta en general, cuando se analiza por tipo de patrón se encontraron algunos errores en la categorización. Así, la concordancia en la interpretación de los PLIs era mayor o menor dependiendo del tipo de patrón estudiado.

Cuando se analiza la categorización del mismo observador en el tiempo (*intraobservador*), ambos examinadores mostraron una fuerte correlación entre las dos sesiones (Tabla 4). Esto significa que cada observador tiene claro sus propios criterios de clasificación. En un análisis más detallado por categorías (Tabla 5 y Tabla 6), se puede apreciar que ambos observadores tienen una buena repetibilidad para los patrones más gruesos (patrones *Amorfo* y *Coloreado*). Al analizar el patrón de espesor marginal (patrón *Fluido*), la repetibilidad era buena, pero menor que en los casos anteriores. Para este patrón, el error en la clasificación en los dos observadores tiende a estar entre los patrones *Marmóreo Abierto* y *Marmóreo Cerrado*, lo que significa que los "elementos de clasificación" que se utilizan para el patrón *Fluido* no están del todo claros. Por último, para los patrones más delgados, ambos observadores fallaron en la clasificación de los patrones marmóreos. Mostraron una tendencia a confundir el *Marmóreo Abierto*

con el *Marmóreo Cerrado*, y el *Marmóreo Cerrado* con el *Fluido*. Es decir, cuando la imagen es un poco confusa, el Observador 1 tendía a clasificar *Marmóreo Cerrado* como *Marmóreo Abierto*, mientras que el Observador 2 solía confundir el *Marmóreo Abierto* con el *Fluido*. Esto indica que, para las imágenes más difíciles cada observador mostró algunas dudas a pesar de su experiencia en la categorización de los PLIs.

Al comparar la categorización de los PLIs entre ambos observadores (*análisis interobservador*), éstos mostraron una correlación aceptable en ambas sesiones (Tabla 7), pero menor que la obtenida en el análisis intraobservador (Tabla 4). Esto significa que los criterios generales de clasificación están claros, pero hay algunas lagunas en la interpretación/descripción de la categorización para ser perfectamente repetible e intercambiable entre los dos observadores. El porcentaje de concordancia detectado dependía del tipo de patrón examinado (Tabla 8 y Tabla 9). Ambos observadores mostraron una concordancia fuerte cuando clasificaban los patrones *Coloreado* y *Marmóreo Abierto*, lo que significa que en los límites extremos de la clasificación (los patrones más gruesos y más delgados) sus características son muy claras. Por otra parte, la concordancia era menor cuando categorizaban patrones comprendidos entre espesor delgado y espesor marginal (*Marmóreo Cerrado* y *Fluido*). Los errores más frecuentes en las categorizaciones fueron entre los patrones *Marmóreo Abierto* y *Cerrado*, y entre *Fluido* y *Marmóreo Cerrado*. Por último, la concordancia para el patrón *Amorfo* resultó ser pobre, confundándose entre patrón con todas las demás categorías.

En resumen, estos resultados indican una buena correspondencia entre los observadores, especialmente en los patrones *Coloreado* y *Marmóreo Abierto* (los valores extremos del esquema de clasificación Guillon), pero la concordancia era pobre cuando se compararon los resultados de los patrones *Marmóreo Cerrado*, *Fluido* y *Amorfo* (grados medios en la clasificación Guillon).

Aunque se encontró una correlación sustancial entre las categorizaciones de observadores experimentados, los errores en la clasificación pueden aparecer incluso en el mismo observador. Algunos errores entre los patrones adyacentes podrían reducirse mediante la inclusión de patrones intermedios (aumentando la sensibilidad en el reconocimiento de patrones). Se debe indicar que el PLI representa un aumento continuo de espesor de la capa lipídica de 13 nm (*Marmóreo Abierto*) a 180 nm (Patrón *Coloreado*).⁴⁴ Así, podría ser escaso considerar sólo cinco categorizaciones. En futuros estudios se podrían incluir subclasificaciones en la categorización de los PLIs para aumentar la sensibilidad de la metodología.

En este estudio se utilizó la clasificación original de de Guillon,⁴⁴ que se divide en cinco pasos, *Marmóreo Abierto*, *Marmóreo Cerrado*, *Fluido*, *Amorfo* y *Coloreado*, que representan capas lipídicas delgadas, intermedias y gruesas. Otros estudios utilizaron diferentes clasificaciones, tal como el sistema de clasificación clínica de Korb,⁴⁶ que se utiliza como una aproximación desde el punto de vista clínico. Este sistema es menos específico que la clasificación de Guillon, ya que incluye menos categorías.⁴⁶ Otros autores han utilizado un esquema de clasificación más sensible a la de Guillon incluyendo categorías intermedias.^{219, 220} En este sentido, Isenberg et al²¹⁹ describieron diez grados de PLI: 1) ausencia de lípidos, 2) *Marmóreo Abierto*, 3) *Marmóreo* detallado 4) *Marmóreo Cerrado*, 5) Combinación *Marmóreo* - *Fluido*, 6) *Fluido*, 7) Combinación *Fluido* - *Amorfo*, 8) *Amorfo*, 9) Combinación *Amorfo* - *Coloreado* y 10) *Coloreado*.

De acuerdo con el DEWS¹², la evaluación de los patrones de capa lipídica muestran una variedad de problemas: 1) la intensidad de color de las imágenes de interferencia están influidos por el ángulo de incidencia y el índice de refracción de las capas lipídica y acuosa de la lágrima; 2) las imágenes de interferencia están influenciadas por el tipo

de parpadeo (por lo tanto, es importante para que el sujeto parpadear de forma natural); 3) la cantidad de secreción meibomiana en el borde libre del párpado no siempre se correlaciona con el espesor de la capa lipídica superficial. Esto indica que se necesita desarrollar más el análisis de las imágenes para la cuantificación del espesor de la capa lipídica lagrimal.

En conclusión, este estudio muestra que algunos aspectos de esta técnica deben ser dirigidos a aumentar su sensibilidad. El entrenamiento en la categorización de los PLIs es esencial ya que la clasificación de los patrones es muy difícil. En este sentido, podría ser útil disponer de un banco completo y extenso de imágenes para ayudar en la clasificación de los PLIs. Asimismo se debería proporcionar, junto con las imágenes, una descripción y explicación detallada de cómo las características de los PLIs varían entre los grados, ya que la clasificación de los PLIs realmente es continua en lugar de discreta, por lo que se necesitarían describir más subclasificaciones (*patrones intermedios*).

6.1.2 Nueva aplicación informática para el análisis objetivo del patrón lipídico interferencial

Aunque el Tearscope ha probado su validez, se necesita entrenamiento para categorizar correctamente los PLIs.¹⁹ Esto unido a la falta de un banco de imágenes que sirva de referencia ha provocado que muchos profesionales de la visión hallan abandonado este test.

El propósito de este estudio fue diseñar una nueva aplicación informática capaz de clasificar correctamente los PLIs y así eliminar la subjetividad de la prueba. Esta nueva aplicación se basa en la identificación de texturas y colores a través del reconocimiento de patrones. En un estudio anterior, el método fue probado en 91 imágenes digitales adquiridas de la misma forma que en este estudio.²²¹ Los resultados obtenidos indicaron una buena precisión en la clasificación de PLIs y se encontraron más de un 90% de clasificaciones correctas.²²¹

En el presente estudio, se ha podido comparar las clasificaciones realizadas por la *nueva aplicación* contra un observador experimentado (*examinador de referencia*) y dos observadores menos experimentados, para evitar el efecto del entrenamiento de los observadores en los resultados de la *aplicación informática*. Al evaluar los patrones Marmóreo, *Fluido* y *Coloreado* usando la clasificación clínica de Korb,⁴⁶ los resultados indican que el *nuevo software* fue capaz de clasificar las imágenes de los PLIs de forma similar al *examinador referente*, de manera que se observó una fuerte correlación entre las clasificaciones realizadas por este *observador* y la *nueva aplicación*. Las categorizaciones de los PLIs realizadas por los otros observadores (*observador 1 y 2*) también mostraron una fuerte correlación con los del *examinador de referencia*, aunque la correlación fue ligeramente menor para el *observador 2*. A partir de los datos proporcionados en las tablas 10, 11 y 12, se puede observar que el nuevo software era mejor para clasificar los PLIs más delgados, mientras que los dos observadores subjetivos (*observador 1 y 2*) identifican mejor los PLIs más gruesos. Este es un punto importante, ya que los patrones finos son más difíciles de graduar. A pesar de estas diferencias en el patrón de clasificación, la *nueva aplicación*, el *observador 1* y el *observador 2* mostraron una buena concordancia con el *examinador de referencia* tal como se revela al obtener de un 81% a un 100% de coincidencias en las clasificaciones (Tablas 13, 14 y 15). Estos resultados fueron confirmados cuando el *patrón Marmóreo* se dividió en *Marmóreo Abierto* y *Marmóreo Cerrado*. En general, la *nueva aplicación* mostró una buena capacidad para distinguir entre los patrones *Marmóreo Abierto* y

Marmóreo cerrado designados por el *examinador referente*, y esta capacidad fue incluso mucho mejor que la observada malla abiertos y cerrados designados por el examinador de referencia y esta capacidad fue incluso mejorada sobre la mostrada por los *observadores 1 y 2* (Tabla 16 y Tabla 17), especialmente para el *Marmóreo Cerrado*.

Al comparar los grados de PLI asignados por los tres observadores (sin contar al *examinador de referencia*), los patrones categorizados por la *nueva aplicación* y los dos *observadores* restantes revelaron una buena similitud entre ellos (Tablas 18-20).

La *nueva aplicación* clasificó los PLIs de forma similar a los dos *observadores* subjetivos. Por lo tanto se puede considerar que el uso de la nueva aplicación es intercambiable con una evaluación subjetiva realizada por un profesional de la visión, pero con las ventajas de ser una técnica automática, rápida y no está afectada por factores subjetivos tales como la fatiga.

En este estudio se utilizó el sistema de clasificación clínica de Korb⁴⁶ como una primera aproximación a la clasificación clínica de los PLIs. Este sistema es menos específico que la clasificación original de Guillon, que incluye las cinco categorías principales.⁴⁴ Para evaluar la capacidad de la *nueva aplicación* en distinguir entre un patrón *Marmóreo Abierto* o *Marmóreo Cerrado*, se repitieron las pruebas teniendo en cuenta esta división. Otros autores han utilizado un esquema de clasificación incluso más sensible que el de Guillon, sin embargo, en este estudio se decantó por una clasificación de Korb ya que se buscaba evaluar la nueva aplicación para una utilidad más clínica que descriptiva. De todas formas, el siguiente paso sería incluir subclasificaciones para la categorización de los PLIs con el nuevo software y así mejorar la sensibilidad del método.

También se han diseñado otros dispositivos para evaluar objetivamente la capa lipídica, desde sistemas montados en un laboratorio²²² hasta la cámara digital DR-1, diseñada para evaluar espesor de la capa de lípidos²⁸ diseñada. El principal inconveniente de Tearscope con respecto a la cámara DR-1 es que en las imágenes de los PLIs se puede transparentar el iris. Sin embargo, utilizando la *nueva aplicación* de con el Tearscope se puede evaluar tanto las texturas y colores de las imágenes, al contrario de la cámara DR-1.

En vista de los buenos resultados de la nueva aplicación para categorizar los PLIs, el siguiente paso será mejorar la sensibilidad del método mediante la inclusión de todas las clasificaciones de Guillon y tantas subdivisiones como sea posible. También se examinarán los PLIs en los estadios patológicos tales como disfunción de las glándulas de Meibomio, así como el comportamiento de la dinámica de los PLIs mediante el estudio de los vídeos. Esta nueva aplicación agrega un procedimiento de análisis objetivo con el Tearscope, por lo que es más factible para el uso clínico y así proporcionar datos rápidos y fiables. Uno de los principales inconvenientes de esta técnica era su dificultad de uso y la subjetividad asociada, lo que puede ser la razón que motivó a que *Keeler* descatalogar este instrumento. Sin embargo, se está desarrollando un nuevo Tearscope.²²³

Para utilizar esta nueva técnica, además de Tearscope, se necesitaría una cámara y un ordenador con el software adecuado. Por lo tanto, un mayor desarrollo de esta tecnología podría servir para desarrollar un nuevo instrumento portátil que incorpora todos estos componentes.

6.1.3 Nueva aplicación web que incluye: (1) base de datos de imágenes de patrones lipídicos interferenciales (2) análisis objetivo del patrón lipídico interferencial por zonas.

En el presente trabajo se describen las características utilizadas para categorizar los PLIs. Para minimizar la variabilidad de la clasificación subjetiva, estas características se describen en gran detalle. Las descripciones de los PLIs proporcionadas se basan en categorías básicas de Guillon,⁴⁴ aunque en este trabajo se han ampliado estas descripciones para proporcionar la mayor cantidad de detalles posibles derivados de la experiencia de todos los observadores que participaron en este estudio. En efecto, para este proyecto hasta ahora se han visto 680 videos y cerca de 2000 imágenes. Todas estas imágenes se están cargando a la nueva aplicación web como una guía para los profesionales de la visión. Con el fin de clarificar mejor la descripción de los PLIs, se ofrecen cinco conjuntos de imágenes, una para cada patrón (*Marmóreo Abierto*, *Marmóreo Cerrado*, *Fluido*, *Amorfo* y *Coloreado*), mostrando las zonas comunes que han sido marcadas por 4 observadores experimentados y no tenían conocimiento de los patrones o interpretaciones de los otros 3 observadores. Cada observador marcó las zonas de los distintos PLIs que habían categorizado en cada una de las 50 imágenes. El echo de evaluar las zonas de distintos PLIs observados en una única imagen es muy útil, ya que la capa lipídica puede mostrar múltiples PLIs (lo que representa varios espesores lipídicos). Esto puede indicar la presencia de secreciones lipídicas de distinta composición y puntos de fusión.⁴⁴ Este es un signo de anomalía de las glándulas de meibomio, lo que sugiere que el estudio de la regularidad del PLI es un signo clínico útil.⁴⁴

Con la nueva aplicación iDEAS, las clasificaciones de todos los observadores fueron compiladas para obtener un set de imágenes donde las zonas marcadas habían sido seleccionadas por el criterio de 4 observadores. Estos conjuntos de imágenes ofrecen ejemplos claros de los principales PLIs, junto con sus descripciones detalladas.

En este estudio todos los observadores fueron especialmente escrupulosos para categorizar cada uno de los PLIs. Por lo tanto, cuando los observadores se encontraban con imágenes que no eran capaces de asignarle un PLI específico, ya que sus características eran similares a dos patrones adyacentes, se consideraron “*patrones intermedios*” y no formaron parte de las 50 imágenes que se utilizaron en el estudio. Esto es muy común que ocurra durante el examen de la capa lipídica, ya que aunque el esquema de Guillon es discreto, la variación del patrón en realidad es continua, por lo que en muchas ocasiones los observadores se pueden encontrar con imágenes cuyas características son muy comunes a dos tipos de patrones.²¹⁹ En este sentido otros autores ya han utilizado esquemas con más categorías que las cinco principales de Guillon.^{219, 220} Por lo tanto, a modo de guía, varios ejemplos de estas imágenes categorizadas con “PLIs intermedios” se describieron y se mostraron como guía.

Como fenómeno interferencial, los PLIs están relacionados con la presencia de colores. De echo algunos autores sólo aborad el color del patrón sin considerar su textura.^{28, 46} Lo ideal es evaluar los PLIs realizando un análisis basado en textura y color. Sin embargo, la reflexión lipídica no siempre muestran un patrón de color. La observación de un patrón incoloro (color gris) es porque su espesor está por debajo del espesor mínimo para producir franjas de interferencia. Korb estableció el grosor de la capa lipídica que correspondía a cada color.⁴⁶ En la Tabla 41 se muestra el esquema de Guillon,⁴⁴ la clasificación publicada por Isenberg et al²¹⁹ y su correspondencia con la clasificación de Korb basada en el color.⁴⁶ A partir de estas clasificaciones se puede observar que los PLIs más delgados (del *Marmóreo Abierto* al *Fluido*) muestran un fondo gris, donde a medida que aumenta el espesor, el color amarillo comienza a

apreciarse en la transición de los patrones *Fluido* a *Amorfo*. Por otro lado, a lo largo de la experiencia adquirida en la evaluación de los PLIs se ha observado que cuanto más gruesa es la capa lipídica, más marcados aparecen los detalles de la textura del patrón. Así, a medida que la capa lipídica se vuelve más gruesa, el patrón que se forma pasa por las siguientes etapas: En su forma más delgada casi no hay detalles sobre un fondo oscuro (*Marmóreo Abierto*); cambiando a líneas oscuras claramente visibles sobre un fondo gris cada vez más brillante seguida de la fusión de las líneas para formar grandes manchas oscuras a modo de sierra o zig-zag (*Marmóreo Cerrado*); hasta que esas manchas oscuras se van adelgazando y dan lugar a líneas delgadas y onduladas (*Fluido*); luego el fondo gris se va haciendo amarillento hasta que las líneas onduladas desaparecen para dar el patrón *Amorfo*; y, finalmente, en este fondo amarillo, aparecen los primeros colores marrón / azul (*Coloreado*). Es de esperar que la amplia base de datos de imágenes de los PLIs que se presentan aquí, puedan ayudar a los observadores en la categorización del PLI.

Con respecto a la nueva herramienta automática para identificar varias zonas de los PLIs en una sola imagen del paciente, ésta es capaz de proporcionar zonas similares a las anotaciones hechas por los optometristas 4 experimentados. Por lo tanto, el proceso manual realizado por los expertos puede ser automatizado con los beneficios de no estar afectado por factores subjetivos. Por otra parte este nuevo software mejora claramente la aplicación automática comentada en el estudio anterior que fue diseñado para categorizar el patrón en global. Sin embargo, aún hay gran margen de mejora en el tiempo de procesamiento necesario para generar la imagen de salida (20 minutos de media). En consecuencia, la investigación futura incluirá el desarrollo de una versión optimizada cuyo tiempo de procesamiento hace que sea útil en cualquier rutina clínica.



Tabla 41. Correspondencia en espesor (nm) entre la clasificación del patrón lipídico interferencial publicada por Guillon²⁷ e Isenberg et al²¹⁹ con la clasificación de Korb basada en el color.⁴⁶ Las zonas sombreadas indica falta de correspondencia de espesor entre calcificaciones.

Clasificación de Guillon (patrón lipídico interferencial)	Clasificación de Korb (color)	Clasificación de Isenberg et al (patrón lipídico interferencial)
		Marmóreo Abierto (10-20 nm)
Marmóreo Abierto (13 -50 nm)	Gris a blanco (30-60 nm)	Marmóreo Cerrado (20-40 nm)
Marmóreo Cerrado (13-50 nm)		
Fluído (50-70 nm)		Fluído (50-70 nm)
	Gris/amarillo (75 nm)	
Amorfo (80-90 nm)		Amorfo (80-90 nm)
	Amarillo (90 nm)	
Coloreado (90-180 nm)		Coloreado (> 100 nm)
	Amarillo/marrón (105 nm)	
	Marrón/amarillo (120 nm)	
	Marrón (135 nm)	
	Marrón/azul (150 nm)	
	Azul/marrón (165 nm)	
	Azul (180 nm)	

6.2 ESTUDIO DE LA SECRECIÓN LIPÍDICA MEDIANTE LA MEIBOMETRÍA.

A continuación se comentan los resultados obtenidos en relación al estudio de la meibometría.

6.2.1 Correlación de la meibometría con la sintomatología de ojo seco.

La meibometría es una técnica orientada para evaluar la cantidad de lípidos secretados por las glándulas de Meibomio. El Meibómetro MB550 es un instrumento que utiliza la fotometría para cuantificar "*the casual level*" o cantidad de los lípidos en los bordes de los párpados durante el período entre parpadeos^{42, 161, 170, 173, 175, 215}. El propósito del presente estudio era la evaluación de los resultados de la meibometría en sujetos normales y pacientes con síntomas de ojo seco.

Actualmente, existen pocos estudios que estudiaron el meibómetro^{42, 170, 173, 215}, y no todos se realizaron en seres humanos^{161, 175}. No existe un consenso de cómo el Meibómetro ofrece los datos, y "la unidad arbitraria" utilizada en cada estudio para describir los datos registrados fue diferente: Yokoi et al¹⁷³ dieron sus resultados en unidades arbitrarias (U); Nagymihalyi et al¹⁷⁰ mostraron los valores en unidades instrumentales (IU); Versua et al²¹⁵ describieron sus datos en unidades de densidad óptica del Meibómetro (UA); y finalmente Ofri et al¹⁶¹, Sebbag et al.²⁰⁴, y Benz et al¹⁷⁵ proporcionan los resultados en unidades arbitrarias denominadas unidades Meibométricas (UM). En el presente estudio se utilizó la última nomenclatura para mostrar los datos proporcionados por el software del Meibómetro.

Con el fin de hacer frente a los problemas de notación e interpretación del Meibómetro, Chew et al⁴² utilizaron laurato lauril para calibrar el Meibómetro. El Laurato lauril es un éster de lípidos estándar que es líquido en temperaturas superiores a 31 - 35 ° C, donde los lípidos meibomianos se encuentran en estado *Fluido*. Chew et al⁴² concluyeron que la pendiente de la gráfica laurato lauril era de aproximadamente 60 UM/g de carga de lípidos por mm². Por lo tanto, UM puede ser convertido en equivalentes de laurato lauril dividiendo por un factor de 60. Esta transformación también se realizó en los estudios de Ofri et al¹⁶¹ y Benz et al¹⁷⁵. Siguiendo estas indicaciones, y con el fin de permitir la comparación con otros estudios^{42, 161, 175}, el presente estudio proporciona sus datos convertidos en virtud de este criterio en las tablas del 23 a 26.

Las Tablas 22 y 26 muestran los resultados del Meibómetro para toda la muestra general y las diferentes estratificaciones realizadas. En el presente estudio, la muestra general presenta un valor medio de 276,75 ± 119,43 a 406,49 ± 146,76 UM dependiendo de los métodos de promedio. Siguiendo el criterio de clasificación de OSDI, los sujetos sanos mostraron unos valores de 285,76 ± 116,21 a 427,68 ± 136,44 UM (Tablas 23 y 24), y los sujetos sintomáticos de 245,55 ± 97,88 UM a 355,76 ± 161,64 UM (Tablas 23 y 24). Bajo criterios de McMonnies, los sujetos sanos variaron entre 277,03 ± 122,47 UM y 412,78 ± 146,81 UM (Tablas 25 y 26), mientras que los sintomáticos mostraron unos valores de 150,03 ± 92,99 UM a 304,35 ± 107,84 UM (Tablas 25 y 26). Ambos criterios parecen estar en concordancia con los resultados en pacientes sanos. Sin embargo, los criterios de McMonnies mostraron valores medios más bajos que OSDI para pacientes sintomáticos.

Yokoi et al¹⁷³ realizaron un estudio en 83 pacientes (41 sujetos sanos y 43 con diferentes subtipos de SOS y DGM obstructiva). Al igual que en este estudio, obtuvieron un valor medio promediando 5 curvas (aunque Yokoi et al¹⁷³ no especifica cuantos valores de la curva se usaron en cada una de las curvas). Ellos refirieron valores de 268,5 ± 6,3 UM en el grupo de control y de 127,2 ± 24,4 a 306,4 ± UM a 9,2 UM en pacientes con DGM, lo que estaría en concordancia con los resultados de este estudio.

De la misma forma, Versua et al,²¹⁵ analizaron 193 ojos con el Meibómetro (55 sujetos control y 138 pacientes con DGM) y obtuvieron un valor medio de 300 ± 121 UM para los controles y un rango entre 218 ± 122 y 564 ± 115 UM para los pacientes con DGM obstructiva.

Por otro lado, Nagymihalyi et al¹⁷⁰ realizaron un estudio en 40 ojos de mujeres mayores estableciendo el efecto del calentamiento y enfriamiento del párpado con el Meibómetro. Sus resultado basal medio fue de 154 ± 12 UM (que aumentaba a 203 ± 15 UM con calefacción y disminuía a 108 ± 15 UM con refrigeración). Estos resultados fueron inferiores a los reportados en el presente estudio y el de Versua et al;²¹⁵ Sin embargo, este estudio realizó sus medidas en sujetos mayores.

Como se puede ver en los estadísticos descriptivos de los distintos grupos estratificados según la gravedad de los síntomas (tablas 23 - 26), hubo una disminución del valor del Meibómetro cuando la gravedad de los cuestionarios de síntomas era mayor, y esto se verificó mediante el uso de cuestionarios de síntomas bajo dos criterios diferentes de diagnóstico (con una clasificación en dos subgrupos y otra en tres subgrupos). La estratificación de OSDI en dos grupos mostró (Tabla 23) una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos cuando se obtenían las ocho medidas centrales de cada curva (*Media_8*, $p = 0,025$) o sólo los valores más altos (*Media_1*, $p = 0,017$). Por otro lado, cuando los sujetos se agruparon en una clasificación OSDI de tres subgrupos (Tabla 24), sólo se encontraron diferencias significativas cuando se consideraba el valor más alto de cada curva (*Media_1*, $p = 0,044$). Los procedimientos de promedio restantes no mostraron ninguna diferencia entre los subgrupos OSDI (Tabla 23 y Tabla 24).

Cuando se analizaron los síntomas por el cuestionario de McMonnies, se encontró una diferencia significativa en los dos subgrupos de clasificación para todos los criterios de promedio del meibómetro (Tabla 25; *Media_15*, $p = 0,05$; *Media_8*, $p = 0,04$; *Media_1*, $p = 0,04$). Sin embargo, esto no fue el caso cuando la estratificación de McMonnies se realizó en tres subgrupos de clasificación, independientemente del procedimiento de promediar los datos del Meibómetro (Tabla 26).

Por lo tanto, el presente estudio indica que el Meibómetro parece ser un dispositivo útil para discriminar los sujetos normales de los pacientes con SOS (2 niveles de agrupamiento), pero es menos sensible en escala que gradúa la severidad de los síntomas (3 niveles de agrupamiento). Estos resultados están en concordancia con lo publicado previamente por Yokoi et al,¹⁷³ donde se encontraron diferencias en los valores obtenidos con el Meibómetro cuando se compararon pacientes sanos con pacientes con varios subtipos de DGM. Los mismos resultados fueron encontrados por Versua et al,²¹⁵ que encontraron diferencias significativas entre los sujetos control, pacientes con DGM y entre los diferentes tipos de pacientes con DGM agrupados por gravedad. Versua et al²¹⁵ también confirmaron que la Meibometría era un método fiable para distinguir sujetos normales de subgrupos de DGM con un buen grado de precisión. En conclusión, el Meibómetro MB550 se muestra como una herramienta útil para discriminar sujetos sanos de pacientes sintomatológicos, especialmente cuando los datos del meibómetro se promedian considerando el valor más alto de cada curva. Sin embargo, este dispositivo parece tener dificultad en determinar la severidad del paciente.

6.3 OSMOLARIDAD Y MENISCO LAGRIMAL.

A continuación se comentan los resultados de las otras pruebas de evaluación de la PL, osmolaridad y TMH.

6.3.1 Estudio de la repetibilidad del osmómetro Tear Lab

La medida de la osmolaridad es una técnica relativamente nueva en el análisis de la película lagrimal. Hasta hace poco, los osmómetros micro-muestra eran los instrumentos de elección, aunque éstos requerían de una mínima cantidad que excedían el volumen de lágrima que se podían obtener.^{146, 147, 224, 225} Por el contrario, el osmómetro Clifton era capaz de tomar medidas con muestras de reducido volumen.^{146, 226} Sin embargo, parece ser que este instrumento ya no está disponible. Otra opción es el Osmómetro Advanced 3100 Tear Osmometer basado en el principio de depresión del punto de congelación. Sin embargo, aunque sólo se requiere una muestra de 0,05 µl lágrima, cada medición tomaba alrededor de 9 minutos¹⁴⁶ y este instrumento ya no está disponible en Europa. Para hacer frente a esta deficiencia, se diseñó el osmómetro TearLab, basado en el principio de impedancia eléctrica. Este osmómetro sólo necesita un volumen de muestra de 0,05 µl y el procedimiento de recolección de la muestra es sencillo pero tiene dos inconvenientes importantes. El principio de impedancia eléctrica es menos repetible que la técnica de punto de congelación y cada medición produce mucho coste. Khanal et al²²⁷ recomiendan un mínimo de tres mediciones de TearLab por ojo, lo que encarece todavía más esta técnica.

En este estudio, para hacer el análisis del rendimiento del osmómetro de TearLab, se utilizó la prueba-t de una muestra para averiguar si una serie de 20 mediciones obtenidas en muestras de referencia difieren significativamente del valor real (proporcionados por los fabricantes de las muestras de referencia). El criterio utilizado en este estudio fue muy estricto, ya que las mediciones se compararon frente a un único valor de referencia, sin tener en cuenta el margen de error indicado por los fabricantes.

Las muestras de referencia utilizadas por Yildiz et al¹⁴⁷ para evaluar el osmómetro *Advanced Model 3100 Tear Osmometer* eran de una osmolaridad similar (290, 304, 306 y 336 mOsm/Kg)¹⁴⁷ a las incluidas en este estudio (290 mOsm/Kg, 297 y 338 mOsm/l). Yoon et al,²²⁸ utilizaron diez soluciones salinas con osmolaridad entre 286 mOsm/l y 394 mOsm/l (en incrementos de 12 mOsm/l), además de una solución adicional de 400 mOsm/l. Establecieron la precisión del osmómetro TearLab comparando dos medidas repetidas de osmolaridad de 11 soluciones y encontraron un coeficiente de repetibilidad de 5,9 mOsm/l (límites de repetibilidad del 95%; de -7,1 mOsm/l a 4,7 mOsm/l).²²⁸

En este estudio la precisión del TearLab se evaluó mediante la comparación de los valores de osmolaridad obtenidos con los valores de "referencia" (indicados por el fabricante). Para el conocimiento del autor, este tipo de análisis (mediante el uso de una prueba-t de una muestra) no ha sido abordado antes. Los valores de osmolaridad TearLab obtenidos aquí fueron estadísticamente diferentes de las soluciones estándar extremas (solución de referencia de 290 mOsm/kg y 338 mOsm/l), mientras que no hubo diferencias para la solución de referencia "central" (297 mOsm/L) (Tabla 27). A pesar de estas diferencias, la diferencia media obtenida con la solución estándar de 338 estaba dentro del rango aceptado proporcionado por los fabricantes (Tabla 27). Sin embargo, esto no fue el caso para la solución estándar de 290, donde la diferencia fue mayor que la proporcionada por los fabricantes (Tabla 27). Se puede apreciar que se obtuvieron mejores resultados en las muestras de referencia cuyos valores eran similares a los reportados para los sujetos control (solución de referencia 297)^{224, 229-231} y ojos con SOS (solución de referencia 338),^{146, 230, 232} mostrando que el TearLab ofrece mejores resultados dentro del rango normal de osmolaridad en la lágrima. Aunque se ha

reportado un amplio rango de valores de osmolaridad en los humanos, siendo aproximadamente de 277 mOsm/l²³³ hasta casi 400 mOsm/l,⁶⁸ los valores medios de osmolaridad referidos más frecuentemente para los ojos normales están comprendidos desde 296²²⁴ a 304^{229, 230} o 308 mOsm/l,¹⁴⁶ mientras que la osmolaridad que los valores de osmolaridad normalmente encontrados en el SOS pueden ser desde 308 mOsm/l,²³⁴ 313 mOsm/l,²³⁵ around 320 mOsm/l,^{146, 232} y alcanzando un valor de 365 mOsm/L.²³⁶

Hay que señalar que las soluciones de referencia 297 y 338 son soluciones de calibración diseñadas para el osmómetro TearLab osmometer, por lo que se espera que las medidas estén dentro del rango de medidas aceptado. En cualquier caso, se puede ver que el TearLab ofrece mejores resultados alrededor de 279 mOsm/l.

En el estudio realizado en 50 sujetos sanos, se encontraron resultados similares a los obtenidos en otros estudios.^{36, 232, 237} Se determinó la repetibilidad intersesión del TearLab y no se encontraron diferencias significativas entre las dos sesiones ni tampoco correlación entre la media y la diferencia (Tabla 30). De acuerdo a Bland y Altman, ambas características son esenciales para considerar una técnica clínica aceptable.²⁰⁹ Sin embargo, se obtuvo un rango de dispersión (atendiendo a los intervalos del 95%) demasiado grande. Estos resultados están en concordancia con otros estudios realizados con el TearLab en el que la variabilidad era también inaceptablemente alta.^{227, 234} En un trabajo similar al presente estudio, Eperjesi et al²³⁸ evaluaron la repetibilidad intersesión del TearLab en el intervalo de una semana y, de acuerdo con los resultados presentados aquí, encontraron un intervalo del 95% de repetibilidad alto, e indicaron que las medidas repetidas del TearLab podrían diferir hasta en 33 mOsm/l (en este estudio la diferencia máxima fue de 28 mOsm/L). Sin embargo, Eperjesi et al²³⁸ consideraron que ese nivel de sesgo era bajo, ya que sólo representa el 10% de la media 10% of the mean (328±9.5 mOsm/l en su estudio²³⁸ y alrededor de 300 mOsm/l en éste).

Durante el procedimiento del TearLab la muestra recogida puede ser susceptible a unos efectos totalmente aleatorios, especialmente porque la muestra recogida es pequeña y, por lo tanto, poco representativa (menos del 2%) del volumen total de la PL.²³⁹

Existen pocos estudios que evalúen la repetibilidad intersesión de las medidas del osmómetro TearLab. Gokhale et al,²³¹ en un estudio intersesión, evaluaron la repetibilidad de dos medidas consecutivas con el de TearLab realizadas con un par de minutos de diferencia entre ellas. Estos autores encontraron un mejor coeficiente de repetibilidad (9,4 mOsm/l) que el obtenido aquí (25,89 mOsm/l). Sin embargo, aunque las medidas fueron realizadas en las mismas sesiones, Gokhale et al²³¹ llegaron a encontrar en dos ocasiones diferencias de 19 mOsm/l y 26 mOsm/l, diferencias similares al sesgo encontrado aquí. Estos autores también indicaron que la segunda medida de osmolaridad era significativamente mayor que la primera medida (media de la diferencia ± DE; 3,1 ± 4,8 mOsm/l), por lo que sugirieron que una sola medida puede distorsionar la PL lo suficiente como para aumentar su un poco la osmolaridad.²³¹ En ese sentido, Li et al²⁴⁰ refirieron que la recogida de muestra en el menisco lagrimal lateral puede afectar a la precisión y repetibilidad de las medidas de osmolaridad. También indicaron que la toma de conciencia del contacto de la sonda del TearLab en la superficie ocular, puede inducir en algunos pacientes hipersecreción refleja.²⁴⁰ Por otro lado, se ha visto que la osmolaridad lagrimal también varía con respecto al ángulo en el que se coloca la sonda del TearLab durante la adquisición de la muestra de lágrima.²⁴⁰⁻²⁴²

Las perspectivas para la inclusión de la medida de la osmolaridad lagrimal para evaluar el SOS en la clínica diaria dependen de la disponibilidad de una técnica de medida simple y precisa. El instrumento probado en este estudio puede estar limitado

por su amplia variabilidad en las medidas realizadas en sujetos humanos. Khanal et al²²⁷ indicaron que se podría mejorar la repetibilidad del TearLab promediando varias medidas.

En conclusión, a partir de los resultados encontrados aquí, el osmómetro TearLab mostró en las muestras de referencia (estudio *in vitro*) unos resultados aceptables, aunque los mejores resultados se encontraron en torno a 279 mOsm/l. En pacientes reales (estudio *in vivo*), el osmómetro TearLab no muestra una diferencia media significativa entre dos sesiones separadas durante una semana. Sin embargo, se encontró una variabilidad considerable entre las medidas, con un 95% de probabilidad de que la diferencia entre dos medidas pudiera ser de 28 mOsm/l, lo que es extremadamente alta. De esta forma, en futuros estudios se podría considerar tomar más de una medida para mejorar la repetibilidad del TearLab.

6.3.2 Estudio de los parámetros del menisco lagrimal

Este estudio ofrece una amplia gama de medidas de la TMH obtenidos con dos fuentes de iluminación distintas (LH y Tearscope-Plus) mediante el análisis de imagen. Para obtener unas medias rápidas y repetibles se utilizó un software de uso libre de procesamiento de imágenes basado en Java, ImageJ v1.47i,²⁰⁷ que está disponible para todos los profesionales que desean utilizar esa herramienta. Por último, este estudio también proporciona una evaluación subjetiva del menisco lagrimal que se correlaciona con los hallazgos objetivos.

El uso de captura de vídeo digital a través de las técnicas fotográficas tiene una variedad de posibilidades de utilidad en el estudio de la TMH. Las técnicas de captura permiten evaluar la imagen de forma objetiva y precisa, y ofrecen la posibilidad de medir los resultados *a posteriori*. Las ventajas de las técnicas de imagen o video digital es que las imágenes se pueden ajustar para el brillo, y color. Incluso el profesional de la visión puede reevaluar la medida y detectar detalles que en primer lugar se omitieron o no fueron observados.

Con el objetivo de hacer que las pruebas clínicas sean más objetivas, en la clínica diaria se está implementando el uso de software de medición, que ya se utiliza en la evaluación de la salud ocular tal como en la determinación de la hiperemia conjuntival,^{243, 244} tiempo de ruptura lagrimal^{67, 245} o la cuantificación de la vasculatura retiniana.^{244, 246}

El software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD)²⁰⁷ es una herramienta gratuita y común que se utiliza para diversas aplicaciones que van desde el estudio de los materiales y del suelo, la astronomía y el estudio del clima, a la imagen en medicina y la cristalografía, tal como en el recuento de células o de medidas de área. Recientemente, este software también se aplicó a nivel ocular, tal como la evaluación objetiva en la Meibografía^{247, 248}, el análisis de la progresión de la distrofia endotelial de Fuchs²⁴⁹ o para la visualización de las estructuras importantes en el flujo del humor acuoso²⁵⁰.

En todos los casos, el análisis asistido por ordenador se revela como una técnica útil, con una buena concordancia con la evaluación subjetiva, por lo que el análisis computerizado en las pruebas clínicas tienen un futuro prometedor.

TMH Central observado con lámpara de hendidura y Tearscope.

Los valores de la TMH central obtenidos en este estudio (Tabla 31) resultaron similares que los encontrados por otros trabajos, tanto para el menisco absoluto (TMH-CA)^{39, 192} como para el menisco reflejo (TMH-CR)¹⁷⁹. Sin embargo, los valores de TMH-CA y TMH-CR obtenidos aquí también resultaron ser inferiores a los encontrados en otros trabajos que utilizaban un ocular milimetrado^{23, 177, 190, 197} o análisis de imágenes¹⁹³. Por lo tanto, tal como se ha explicado anteriormente,¹⁹² las diferencias sistemáticas entre los distintos estudios pueden ser debido a las diferencias en la interpretación del límite superior del menisco, que incluso pueden agravarse si se utilizan distintas técnicas de iluminación para observar el menisco lagrimal¹⁹². En un trabajo anterior,³⁸ donde se utilizaron los mismos ajustes para la iluminación con la LH que en el presente estudio (pero con un ocular milimetrado en lugar de análisis de imágenes), se encontró que el valor medio del menisco absoluto era mayor que el encontrado en este estudio (TMH-CA = 0.25 mm³⁸ vs 0.21 mm en este estudio) pero similar al menisco reflejo (TMH-CR = 0.13 mm³⁸ Vs 0.14 mm en este estudio). Se puede observar que las medidas obtenidas con la LH con el método usado aquí (medida con el software ImageJ), muestran una menor DE que los valores obtenidos en otros estudios, tanto para el TMH absoluto^{177, 192} como para el reflejo^{179, 190}. Como cabía esperar, los valores del menisco absoluto (TMH-CA) resultaron ser mayores que los del menisco reflejo (TMH-CR), ya que el menisco reflejo es una medida tomada hasta un punto más bajo en comparación al menisco absoluto. El sesgo entre ambos parámetros (atendiendo a la DE y los IC 95%) que se obtuvieron aquí era menor que el observado con ocular milimetrado (TMH-CA minus TMH-CR mean difference \pm SD; 0.07 ± 0.027 mm en este estudio Vs. 0.12 ± 0.06 mm con ocular milimetrado³⁸).

En este estudio el menisco con fluoresceína (TMH-F) mostró un valor un poco más alto que el obtenido cuando no se instilaba fluoresceína (TMH-CA), (TMH-F – TMH-CA = + 0.013 mm). Aunque se ha referido que la instilación de fluoresceína aumenta la TMH³⁹, también se ha encontrado que si la fluoresceína se instila de forma cuidadosa, incluso con el uso de tiras, los valores normales de la TMH no se ven afectados.³⁸ Sorprendentemente, aunque este estudio utilizó un método mínimamente invasivo, (controlando la cantidad de fluoresceína con una micropipeta) se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la TMH con y sin fluoresceína. Sin embargo, esta diferencia resultó ser muy pequeña (diferencia entre TMH-CA menos TMH-F; -0.02 ± 0.10 con ocular milimetrado³⁸ frente a $-0,013 \pm 0,051$ mm encontrada en este estudio). Por lo tanto, la significación estadística encontrada aquí podría estar derivada por el método utilizado en este estudio (análisis de imágenes con software ImageJ), que puede permitir una mayor resolución de la medida, por lo que es capaz de detectar diferencias más sutiles.

La medida de TMH obtenida con Tearscope (TMH-Tc) fue un poco menor que la obtenida por Uchida et al¹⁹¹ (TMH-Tc; $0,17 \pm 0.045$ mm en este estudio, vs. $0,22 \pm 0.065$ mm, Uchida et al¹⁹¹). Estos autores también utilizaron el software ImageJ para medir la TMH. Las diferencias entre sus resultados y los del presente estudio pueden ser debidos a que, Uchida et al¹⁹¹ utilizaron una magnificación menor que la de este estudio (x12 Uchida et al¹⁹¹ vs. x40 en este estudio). El uso del Tearscope proporciona un contraste mucho mayor que la LH, ofreciendo una imagen fácil de observar sin la necesidad de instilación de fluoresceína.

Cuando se realizó el análisis de Bland and Altman, se encontró una correlación significativa entre la media y la diferencia para las comparaciones entre el menisco total y el reflejo, tanto con LH como con el Tearscope. Esto indica que ambos parámetros (absoluto y reflejo) no reflejan exactamente la misma entidad, por lo que no son

totalmente intercambiables entre sí. Al comparar la TMH sin fluoresceína frente a la TMH con fluoresceína, se encontró una relación significativa entre la media y la diferencia, aunque esta relación era casi nula, que podría ser debido a la variabilidad interindividual de los efectos de la instilación de fluoresceína en los sujetos. Por el contrario, la comparación entre el menisco central con LH y Tearscope mostró que no había correlación entre la media y la diferencia, lo que indica una concordancia más estable y se puede predecir que sus diferencias estarían entre el IC 95%, entre 0,052 mm y 0,12 mm.

TMH nasal y temporal observado con lámpara de hendidura.

Se ha sugerido que la determinación del TMH en distintas localizaciones del párpado inferior, además de la zona central, puede ser un indicador de la regularidad del menisco¹⁹⁴. En un estudio previo,³⁸ se evaluaron los parámetros del menisco nasal y temporal mediante la observación con ocular milimetrado, aunque solo se midieron hasta el reflejo, ya que la medida absoluta era imposible de apreciar con los ajustes utilizados en ese estudio, debido a la dificultad de observar *in vivo* con el ocular milimetrado. Los valores encontrados en ese estudio resultaron ser mayores que los obtenidos aquí (TMH-RN = 0,23 mm³⁸ vs 0,15 mm en este estudio; TMH-RT = 0,21 mm³⁸ vs 0,15 mm en este estudio). Sin embargo, con la mejora en la técnica de visualización y el uso de videos, se pueden apreciar los meniscos absolutos y reflejos e incluso otros parámetros, como el área del menisco, que no fueron objeto de este estudio. Bandlitz et al¹⁹⁵ evaluaron el menisco absoluto nasal y temporal de una manera similar que en este estudio. Estos autores también habían utilizado el programa ImageJ para medir la TMH y encontraron valores similares que en este estudio para el menisco central (TMH-CA = 0,20mm¹⁹⁵ vs 0,21 mm en este estudio), pero ligeramente superiores para los meniscos nasal y temporal (TMH-NA = 0,25mm¹⁹⁵ Vs 0,21 mm encontrado aquí; TMH-TA = 0,27mm¹⁹⁵ vs 0,23 mm encontrado aquí) También habían encontrado que los meniscos nasal y temporal eran más altos que el central,¹⁹⁵ de forma similar a lo encontrado en un estudio anterior³⁸. Sin embargo, en este estudio solamente el menisco temporal resultó ser significativamente más alto que el menisco central.

Guillon y Guillon habían medido el TMH 5 mm nasal y temporal al centro del párpado inferior¹⁹⁴, mientras que en este estudio los meniscos nasal y temporal se determinaron a la altura del limbo. Esto se hizo así para que la evaluación de la TMH fuera siempre a un mismo nivel periférico relativo al tamaño individual de cada ojo. Además con este método es más fácil localizar y visualizar los puntos de medición que si se considera una cierta distancia desde el centro del párpado¹⁹⁵.

Cuando se examinaron los análisis de Bland y Altman, no se encontraron correlaciones entre la media y la diferencia para cada una de las comparaciones que incluían el menisco central, nasal y temporal. Esto indica que las diferencias entre estos parámetros son independientes del valor de la TMH.

Evaluación subjetiva del menisco.

En este estudio se utilizó la valoración subjetiva del aspecto del menisco, evaluando las imágenes obtenidas con LH, y las obtenidas con el Tearscope. En general muy pocos sujetos fueron clasificados como menisco ausente (grado 4) (LH 2 casos, Tearscope 3 casos), mientras que 11 de los 121 sujetos y 6 de los 121 sujetos, para las imágenes con LH y Tearscope, respectivamente, mostraron un menisco marcadamente disminuido o discontinuo (grado 3). Hay que señalar que tanto el grado 2 y el grado 3 indicarían un menisco anormal indicativo de SOS, que no cabría esperarse encontrar en esta muestra de estudio ya que, en principio, todos los sujetos habían pasado el criterio de corte

(cuestionarios OSDI y McMonnies). Esto indica que las distintas pruebas de la PL no muestran una perfecta correlación entre ellas, especialmente cuando evalúan distintos aspectos de la PL o se trata de relacionar signos clínicos con síntomas^{67, 251}.

Tal como se observó en las tablas 34 - 37, existe una tendencia significativa y lógica de la evaluación del menisco subjetiva con la medida de la TMH objetiva, donde los meniscos indicativos de una peor calidad estaban relacionados con valores más bajos de TMH para todos los parámetros objetivos.

Sin embargo cuando se realizan los tests post-hoc para evaluar las diferencias de los valores objetivos de la TMH entre los grados subjetivos por pares, se encuentra que los parámetros objetivos obtenidos con la LH se correlacionan peor con las imágenes del Tearscope.

En ambos tipos de imágenes se aprecia que los parámetros del grado 1 difieren claramente de los parámetros de los restantes grupos subjetivos, sin embargo las diferencias entre los restantes grados son más sutiles. Cuando se valoran las diferencias entre los grados más severos (grado 3 y 4) no se encuentran diferencias significativas entre los parámetros. Esto puede ser debido a la poca cantidad de sujetos incluidos en estas categorías (sobre todo el grado 4).

Como resultado de la evaluación de las imágenes de los meniscos lagrimales, en este estudio se ofrece un ejemplo, a modo de guía, de los grados subjetivos 1 a 4 acompañados con las imágenes tanto de la LH (**Figura 70**) como del Tearscope (**Figura 71**). Se puede apreciar que el Tearscope ofrece una imagen clara y completa del menisco lagrimal y fácil de evaluar.

La aplicación de medidas computerizadas y escalas de graduación representa un método semiobjetivo. Un método más estandarizado y automatizado podría mejorar la precisión y repetibilidad. Las imágenes digitales aplicando el software ImageJ pueden consumir mucho tiempo en la rutina de la clínica diaria. Sin embargo, la implementación de futuros análisis automático asistido por software podría promover la aplicación del análisis del menisco lagrimal en la clínica diaria.

En resumen, este estudio muestra distintos valores de la TMH obtenidos por imagen digital, utilizando una técnica simple pero efectiva. El análisis de imagen digital ofrece un método válido de mejorar la monitorización y detección de cambios en la fisiología ocular. Debido a las diferencias entre los distintos parámetros obtenidos en este estudio, los profesionales de la visión deberían considerar el mismo parámetro de la TMH en las visitas de seguimiento.

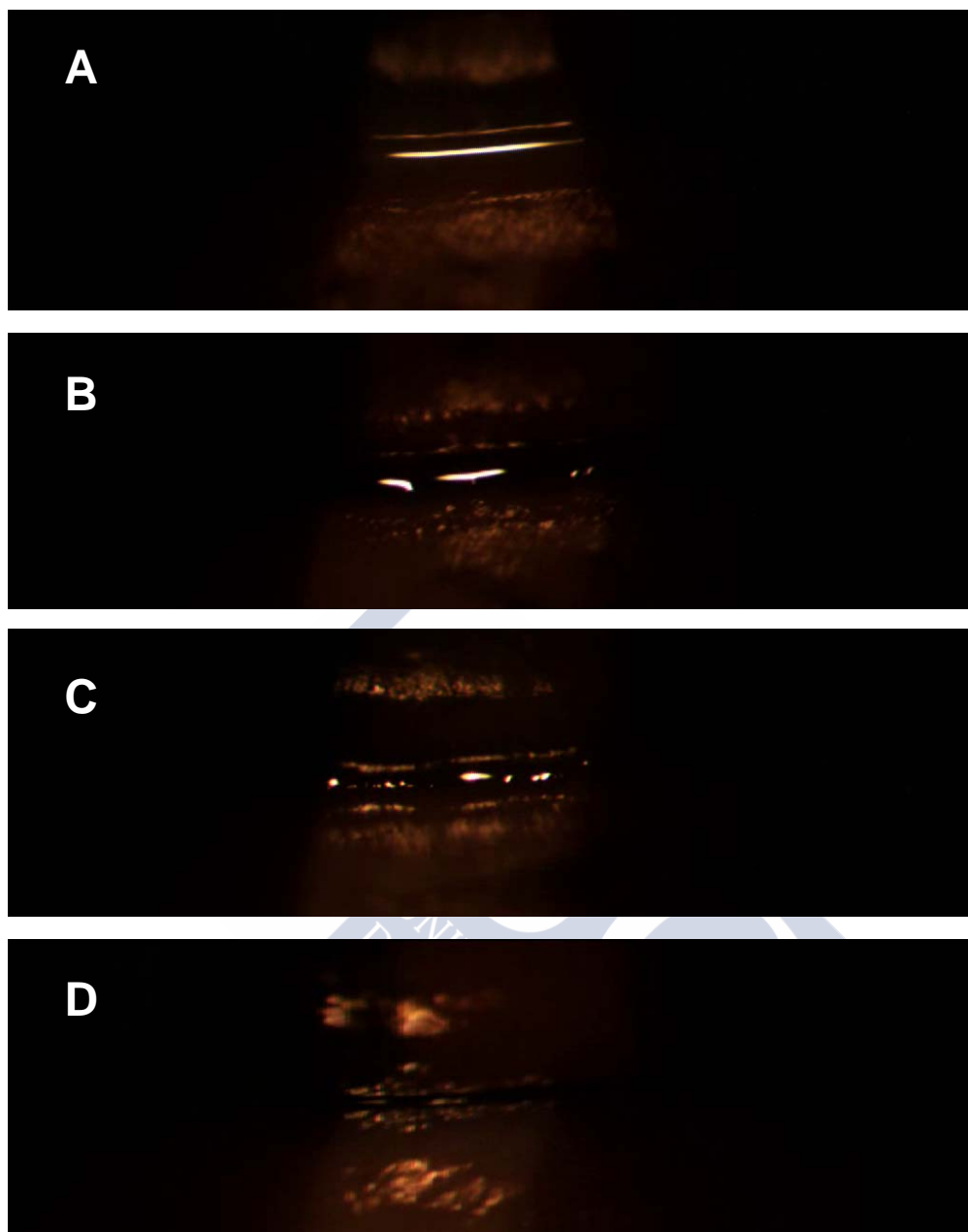


Figura 70. Esquema gráfico de la clasificación subjetiva del menisco con lámpara de hendidura. A) Grado 1, B) Grado 2 C) Grado 3 D) Grado 4

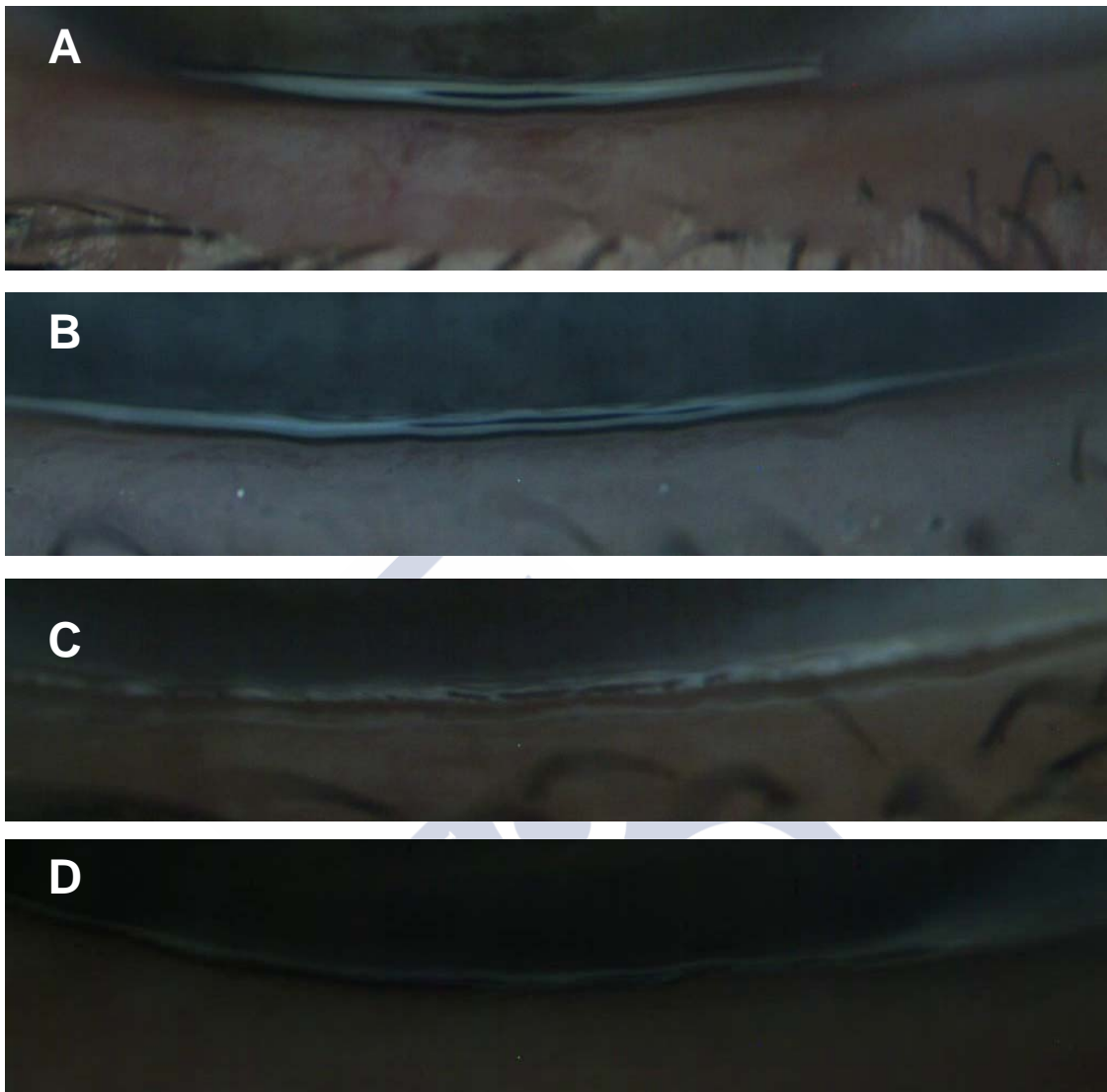


Figura 71. Esquema gráfico de la clasificación subjetiva del menisco con Tearscope. A) Grado 1, B) Grado 2 C) Grado 3 D) Grado 4

6.3.3 Correlación entre la osmolaridad de impedancia eléctrica (Tear Lab) y la altura del menisco lagrimal en relación a la sintomatología

En este estudio se encontró una relación entre la osmolaridad y la TMH (ver **Figura 63**) tal que a mayor valor de osmolaridad (indicando peor calidad de la PL) menor valor de la TMH. Esta tendencia también se observó en el análisis cluster (**Figuras 63 a 67**), por la cual la osmolaridad y la TMH mostraron una correlación mejor cuando un cuestionario indicaba SOS, e incluso esta correlación mejoraba todavía más cuando ambos cuestionarios indicaban SOS. Esto sugiere que las correlaciones entre osmolaridad y TMH son más pronunciadas en sujetos sintomáticos. Además, cuando la

muestra de estudio se estratificaba por edad, la mejor correlación entre las dos variables se evaluaba en los sujetos de mayor edad.

De acuerdo con estos resultados, Glasson et al¹⁵⁵ detectaron una menor TMH en los usuarios sintomáticos intolerantes a las LC que en los sujetos control. Estos autores también observaron que la TMH se correlacionaba negativamente con la osmolaridad (correlación de Pearson para la altura del menisco [mm] vs osmolaridad [mOsm/l] fue de $r = -0,566$; $p = 0,014$ y $r = -0,438$; $p = 0,047$ para los dos grupos de sujetos).¹⁵⁵ Por el contrario, Nichols et al⁷⁰ no detectaron ninguna correlación entre la altura del menisco lagrimal y los síntomas de ojo seco. Sin embargo, estos autores habían medido la TMH utilizando la altura del haz variable de la LH, lo que es un método menos preciso y mucho más influenciado por los errores subjetivos y la interpretación que el método de análisis de imagen utilizado aquí.

Varios autores han relacionado los valores de osmolaridad elevados con PL alterada, que conducen a padecer síntomas y discomfort.^{21, 68, 150, 234} Por otra parte, una TMH disminuida puede inducir síntomas en pacientes con distintas formas de SOS,^{24, 252} por lo tanto, era de esperar encontrar valores de osmolaridad elevados en individuos con alturas de menisco disminuidas.

Cuando el menisco lagrimal se evaluó de forma subjetiva, se volvió a encontrar una correlación significativa entre la osmolaridad elevada con un menisco de peor calidad. Esta relación era significativa y resultaba más fuerte a medida que aumentada la edad y la síntomas de los pacientes.

Pocos estudios han analizado la relación entre la osmolaridad y la TMH, e incluso menos estudios han considerado la interpretación subjetiva del menisco lagrimal.¹⁷⁷ Cuando se compararon las medidas objetivas de la TMH con las interpretaciones subjetivas de la calidad de menisco, se observó una correlación de buena a fuerte entre la evaluación subjetiva de menisco y la TMH (**Figuras 62 a 67**). Esto determinaba que los valores más bajos de TMH medidos objetivamente, un observador experimentado calificó el menisco lagrimal como peor, y de nuevo, se encontró una mejor correlación en los sujetos de más edad y con mayor sintomatología.

Los resultados de este estudio indican una mejor correlación entre las variables de la PL en pacientes sintomáticos y los sujetos de más edad, cuyas características de la PL son peores que en individuos más jóvenes.²⁵³ También se ha observado que las personas mayores obtienen peores puntuaciones en los cuestionarios OSDI y McMonnies (Tablas 38 - 40 Tabla 39). Además, los sujetos mayores mostraron síntomas de ojo seco peores (la edad media de los sujetos clasificados como SOS por los dos cuestionarios era de 42,03 años, mientras que aquellos sujetos cuyas puntuaciones no indicaban SOS en ningún cuestionario o sólo fallaban un cuestionario eran de 20,81 y 25,93 años de edad, respectivamente (Tablas 38 - 40).

Este estudio también reveló que la calidad del menisco lagrimal (tanto con las medidas objetivas como las valoraciones subjetivas) y la osmolaridad se correlacionaban mejor en sujetos sintomáticos, especialmente aquellos cuyas puntuaciones en ambos cuestionarios indicaron que tenían SOS. Estos resultados también confirman la suposición hecha por Tomlinson et al²³ donde el potencial de correlación es mayor cuando se incluye una gama más amplia de valores ofrecidos por la inclusión de un grupo de ojo seco, y que en los sujetos normales, se produciría significación estadística siempre que se incluyera una rango de valores lo suficientemente grande.

Además, parece que el uso de cuestionarios estandarizados de bajo costo y de la clasificación subjetiva del menisco lagrimal (en oposición a las pruebas más costosas de osmolaridad y grabación de vídeo) puede ser un protocolo válido para los propósitos de

detección de ojo seco, especialmente para los sujetos sintomáticos más mayores. Para identificar la etiología del SOS, sin embargo, se necesitan varias pruebas incluyendo la medición de osmolaridad, ya que es bien conocido que la hiperosmolaridad lagrimal.





7 CONCLUSIONES





A continuación se muestran las conclusiones derivadas de los trabajos de investigación recogidos en esta tesis.

1. La caracterización de los PLIs realizada por clínicos experimentados indican una buena correspondencia entre ellos, especialmente en los patrones *Coloreado* y *Marmóreo Abierto* (los valores extremos del esquema de clasificación Guillon). Sin embargo la concordancia es menor entre los patrones *Marmóreo Cerrado*, *Fluido* y *Amorfo* (grados medios en la clasificación Guillon).
2. La mayoría de los errores en la categorización de los PLIs están provocados por la indecisión de clasificar una imagen entre dos patrones adyacentes, lo que se podría reducir incluyendo patrones lipídicos intermedios, aumentando así la sensibilidad de la categorización.
3. La nueva aplicación objetiva para categorizar los PLIs de forma automática, es capaz de clasificar, con una fuerte correlación, los patrones previamente categorizados por un observador muy experimentado (observador de referencia).
4. La nueva aplicación objetiva clasifica los PLIs de forma similar que los clínicos experimentados, e incluso es más preciso en reconocer los patrones más delgados (patrones marmóreos), siendo éstos los más difíciles de caracterizar dada la ausencia de rasgos claros (textura) que definan la imagen.
5. La aplicación web iDEAS, desarrollada en esta tesis, es una plataforma útil para el almacenamiento de imágenes de los PLIs. Además incluye una herramienta para el “marcado manual” de las zonas características de cada patrón, y de la inclusión de un sistema objetivo capaz de categorizar las “zonas” de los patrones de forma automática. Finalmente la aplicación detecta y categoriza automáticamente dichas zonas.
6. Con la aplicación de marcado manual iDEAS se puede generar una base de datos de de PLIs cuyas zonas categorizadas están en concordancia con los 4 observadores experimentados. Esta base de datos puede servir de guía a los profesionales de la visión que utilizan los PLIs para la evaluación de la PL.
7. La aplicación o sistema automático de la plataforma iDEAS categoriza de forma similar las distintas zonas de PLI que los 4 observadores experimentados. Esta plataforma puede ser una herramienta útil para los profesionales de atención primaria de la visión.
8. El meibómetro MB550 es una técnica útil para evaluar la cantidad de grasa meibomiana depositada en el borde libre palpebral, independientemente del sistema de promediar los resultados.
9. Las Unidades meibométricas “*The casual level*” se correlacionan con la sintomatología de los pacientes determinada mediante los cuestionarios OSDI y McMonnies. Los diferentes sistemas de promediar los datos “*The casual level*” de las 5 curvas obtenidas, mostraron una mayor correlación con los síntomas (cuestionarios OSDI y McMonnies) cuando se promediaba el valor más alto de dichas curvas.
10. Los valores de osmolaridad obtenidos con el TearLab en soluciones estándares de 290 mOsm/kg y 338 y 297 mOsm/L muestran que habían diferencias significativas en las soluciones de referencia de 290 mOsm/kg y 338 mOsm/l, mientras que no hubieron diferencias para la solución de referencia "central" 297 mOsm/L.

11. La osmolaridad con el TearLab en lagrimas humanas, aunque ofrece una herramienta rápida y fácil de realizar en la clínica diaria, está afectada por una baja repetibilidad (puede haber una diferencia de hasta 28 mOsm/L). La inclusión de varias medidas en cada caso podría reducir esta variabilidad, pero dado su elevado coste, haría menos viable la inclusión de esta técnica de forma masiva.
12. La TMH ofrece una medida objetiva, rápida y no invasiva del volumen lagrimal que, a su vez, se pueden valorar con varios parámetros. Con la ayuda de imágenes y un software de libre descarga y sencillo, como el *ImageJ*, se puede obtener una valoración más fácil y con menos variabilidad que la obtenida con un ocular milimetrado.
13. Dadas las diferencias entre los parámetros objetivos de la TMH, se aconseja utilizar siempre el mismo parámetro de menisco lagrimal para la evaluación, diagnóstico y seguimiento de la PL del paciente.
14. La valoración subjetiva del menisco es una forma útil de valorar el menisco lagrimal que, con la ayuda de una escala graduada, ofrece unos resultados que se correlacionan con los valores objetivos.
15. Existe una correlación significativa entre la TMH determinada objetiva y subjetivamente y la osmolaridad medida con el TearLab.
16. La correlación entre la TMH (objetiva y subjetiva) y la osmolaridad era más alta en pacientes con edades comprendidas entre 20 y 45 años que en los jóvenes < 20 años. Esta correlación era incluso mayor cuando los sujetos tenían más de 45 años.
17. La correlación entre la TMH (objetiva y subjetiva) con la osmolaridad era más alta en pacientes que indicaban ojo seco en uno de los dos cuestionarios (OSDI o McMonnies) que en los sujetos asintomáticos. Esta correlación era incluso mayor cuando los sujetos fallaban ambos cuestionarios.
18. La correlación entre el valor objetivo de la TMH y la valoración subjetiva del menisco lagrimal aumenta a medida que aumenta la edad y los síntomas de los pacientes. Ésta es mayor en pacientes > 45 años y que indicaban ojo seco en los dos cuestionarios (OSDI y McMonnies).

8 PERSPECTIVAS DE FUTURO





A partir de los resultados obtenidos en esta tesis existen varias líneas de investigación que deberían ser abordadas con futuros estudios.

Con respecto a la valoración del PLI se observa que, a pesar de la experiencia en la categorización de los mismos, muchas veces los observadores muestran dificultades en decidir el tipo de patrón entre dos categorías adyacentes. Esto se podría solventar aumentando la sensibilidad de la clasificación incluyendo categorías intermedias (con respecto a las clásicas de Guillon), ya que la evolución del PLI realmente es continua. Futuros estudios deberían incluir estos tipos de patrones tanto en la valoración subjetiva, por parte de los observadores, como en el desarrollo de las aplicaciones informáticas para detectar de forma automática el tipo de patrón. En esta tesis se indica una muestra de los tipos de patrones intermedios, junto con su descripción, que podría ser la base para incluirlos en futuros estudios.

Con respecto a la nueva aplicación informática para categorizar los PLIs de forma global, se observa que es ésta es capaz de clasificar los patrones de la misma forma que haría un observador experimentado. Esto se ha realizado con las 5 categorías clásicas de Guillon, por lo que el siguiente paso debería incluir los patrones catalogados como “patológicos” (*Coloreado* de segundo orden o patrón globular) y realizar nuevos estudios evaluando esta aplicación en distintas cohortes divididas según la presencia y tipo de SOS (ojo seco hiposecretor, evaporativo, disfunción de glándulas de meibomio, etc). De la misma forma, habría que incluir los patrones intermedios comentados anteriormente.

Además de categorizar los PLIs de forma global, se ha diseñado una segunda versión de esta aplicación que categoriza distintas zonas de patrones en una única imagen. Esto es importante ya que normalmente el patrón no es homogéneo. Se ha visto que el porcentaje de áreas que detecta esta aplicación es similar a los observadores experimentados. Sin embargo esta aplicación aún está en desarrollo ya que se necesita realizar más estudios e incluir el análisis de la regularidad u homogeneidad del patrón, dependiendo de la cantidad de distintos patrones presentes en una única imagen. De la misma forma se requiere realizar más estudios para evaluar esta aplicación en muestras amplias y divididas según el tipo de ojo seco.

El objetivo final es integrar ambas aplicaciones en una única que ofrezca todas las prestaciones comentadas anteriormente para ser incluida de forma rutinaria en la observación del PLI. En esta tesis, la categorización de los patrones se realizó mediante imágenes. El siguiente paso es realizar esto mismo directamente de los vídeos, sin necesidad de capturar las imágenes. El software debería de ser capaz de capturar los frames más representativos del vídeo y evaluar el tipo de patrón. Esto ofrece dos ventajas, por un lado agiliza la técnica, ya que el software podría analizar el PL en tiempo real, sin necesidad de la preparación de las imágenes. Por otro lado esto ofrecería una valoración de cómo el PLI cambia durante los parpadeos o con el tiempo.

Este software se incluye en una plataforma denominada iDEAS, que permite organizar a los pacientes, tanto de sus datos de afiliación como de los vídeos capturados. Esta plataforma está orientada al análisis de los PLIs, aunque el objetivo es incluir otros parámetros de la PL, como el BUT o la TMH, de forma que se puedan integrar las pruebas de la PL más útiles con el fin de garantizar un conocimiento del estatus lagrimal del paciente. En la plataforma iDEAS también se incluyen las imágenes de PLIs categorizadas por zonas, con la garantía de haber sido evaluadas en concordancia por 4 evaluadores experimentado. Un objetivo de esta herramienta es ofrecer una amplia base de datos (se está ampliando constantemente) para que sirva de guía y aprendizaje a otros observadores.

Los resultados de la meibometría mediante el uso del meibómetro MB550 mostraron que después de obtener 5 curvas características se obtenía mejor correlación con la sintomatología al promediar el valor más alto. Sería muy útil realizar más estudios evaluando esta técnica en relación a otras pruebas de la PL, así como en sujetos que presenten SOS.

Dada la importancia de la capa lipídica y la DGM en el SOS evaporativo, se debería estudiar la composición de la capa lipídica y correlacionarla con los distintos tipos de PLs en sujetos normales y con DGM.

En relación a la osmolaridad obtenida con el TearLab, se observa que esta técnica, a pesar de ser muy rápida y fácil de realizar, está afectada por una alta variabilidad. Se debería realizar varios estudios para evaluar la forma de obtener resultados más repetibles. Uno podría ser valorar los resultados obtenidos según la zona del párpado donde se capturó la muestra, o la inclusión de varias medidas por ojo. Estas medidas podrían ser recogidas en distintas zonas del párpado para garantizar una mayor representatividad de la osmolaridad de la PL. Sin embargo esto podría encarecer mucho la técnica dado el coste de cada tarjeta de la sonda. El desarrollo tecnológico del TearLab debería encaminarse a la fabricación de tarjetas de prueba (microchips) multiusos, pues sería deseable poder realizar más de una medida para aumentar su fiabilidad. Incluso el empleo de un sistema adecuado que limpiase los electrodos tras su uso, podría ser suficiente. Las clásicas células de conductividad, utilizadas para la medida de esta magnitud en diferentes electrólitos, utilizan electrodos de Pt (platinados) que no necesitan recambio alguno, a diferencia de los microchips del TearLab, lo que encarece la medida.

Finalmente, en esta tesis se muestra una amplia descripción de los distintos parámetros de la TMH, así como una descripción, acompañada con imágenes, de la valoración subjetiva del menisco. El siguiente paso sería realizar estudios donde se evaluaran estos parámetros en muestras con sujetos control y con SOS, así como la evaluación del menisco en la progresión y tratamiento del SOS, tanto en la valoración de la altura como en la regularidad.

9 PUBLICACIONES





9.1 PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Esta tesis se realizó dentro del **proyecto de Investigación FIS de Referencia PI10/01098** (1/01/2011 a 31/12/2013) con título:

“Desarrollo y validación de una nueva aplicación informática para la valoración objetiva de la película lagrimal” concedido por Secretaría de Estado de Investigación y del Instituto de Salud Carlos III. Investigadora Principal: Eva Yebra-Pimentel Vilar.

9.2 CAPÍTULOS DE LIBRO.

1. Remeseiro B, Penedo MG, **Garcia-Resua C**, Yebra-Pimentel E, Mosquera A. Dry Eye Characterization by Analyzing Tear Film Images. *Ophthalmological Imaging and Applications*, Chapter 23, 449-475, 2014.
2. Penedo MG, Remeseiro B, Ramos L, Barreira N, **Garcia-Resua C**, Yebra-Pimentel E, Mosquera A. Automatization of Dry Eye Syndrome Tests. *Image Analysis and Modeling in Ophthalmology*, Chapter 16, 293-320, 2014.

9.3 ARTÍCULOS.

1. Pena-Verdeal H, **Garcia-Resua C**, Miñones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Accuracy of a Freezing Point Depression Technique Osmometer. *Optometry and Vision Science*. 2015; 92:e273-83.
2. **Garcia-Resua C**, Pena-Verdeal H, Remeseiro B, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Correlation between tear osmolarity and tear meniscus. *Optometry and Vision Science*. 2014; 91:1419-29.
3. **Garcia-Resua C**, Pena-Verdeal H, Miñones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Interobserver and intraobserver repeatability of lipid layer pattern evaluation by two experienced observers. *Contact Lens & Anterior Eye*. 2014; 37:431-7.
4. Ramos L, Barreira N, Mosquera A, Penedo MG, Yebra-Pimentel E, **García-Resúa C**. Analysis of parameters for the automatic computation of the tear film break-up time test based on CCLRU standards. *Comput Methods Programs Biomed*. 2014;113: 715-24.
5. Remeseiro B, Penas M, Barreira N, Mosquera A, Novo J, **García-Resúa C**. Automatic classification of the interferential tear film lipid layer using colour texture analysis. *Comput Methods Programs Biomed* 2013; 111:93-103.
6. **García-Resúa C**, Giraldez MJ, González-Penedo M, Calvo D, Penas M, Yebra-Pimentel E. New Software Application for Clarifying Tear Film Lipid Layer Patterns. *Cornea* 2013; 538-46.
7. Pena-Verdeal H, **Garcia-Resua C**, Ramos L, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Diurnal BUT variations determined in healthy subjects by software-assisted interpretation of tear film videorecordings. *Clinical & Experimental Optometry*. *Aceptado para publicación*.
8. Pena-Verdeal H, **Garcia-Resua C**, Ramos L, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Analysis of the relationship between tear film dynamic stability and osmolarity. *Ophthalmic Physiol Opt*. *Sometido para publicación*.

9. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Barreira N, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Validation of an open-source software for tear meniscus height measurement. *Contact Lens & Anterior Eye. Sometido para publicación.*
10. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Miñones M, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Clinical relationship between lid margin meibum and tear film stability. *Eye & Contact Lens. Sometido para publicación.*
11. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Remeseiro B, Penedo MG, Giráldez MJ, Yebra-Pimentel E. New web application for storing and classifying Tearscope lipid layer images: optimizing image capture and lipid layer pattern. *Medicine. Sometido para publicación.*
12. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Miñones M, Giráldez MJ, Yebra-Pimentel E. Accuracy of TearLab osmometry on standards and repeatability on real tears. *Contact Lens & Anterior Eye. Sometido para publicación.*
13. **García-Resúa C**, Pena-Verdeal H, Giráldez MJ, Yebra-Pimentel E. Assessment of lower Tear Meniscus Height by image analysis. *Contact Lens & Anterior Eye. Sometido para publicación.*
14. Remeseiro B, Barreira N, **García-Resua C**, Lira M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E, Penedo MG. iDEAS: a web-based system for dry eye assessment. *Journal of Medical Informatics. Sometido para publicación.*

9.4 PROCEEDINGS

1. Sanchez L, Barreira N, **García-Resua C**, Yebra-Pimentel E. Automatic Selection of Video Frames for Hyperemia Grading. Eurocast 2015, 165-166, Las Palmas, Spain, February 2015.
2. Remeseiro B, Penedo MG, **García-Resua C**, Yebra-Pimentel E, An automated tool for tear film distribution maps. II International Conference on Applications of Optics and Photonics (AOP 2014), 41, Aveiro, Portugal, May 2014.
3. Remeseiro B, Mosquera A, Penedo MG, **García-Resua C**, Tear film maps based on the lipid interference patterns, 6th International Conference on Agents and Artificial Intelligence (ICAART 2014), 1, 732-739, Angers, France, March 2014.
4. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Ramos L, Mosquera A, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Measuring the area of tear film break-up by image analysis software. In: SPIE P, editor. 8th Iberoamerican Optics Meeting and 11th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Application. Porto (Portugal): Proc. SPIE; 2013.
5. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Remeseiro B, Penedo MG, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Criteria for lipid layer pattern evaluation: Pli-marker database. In: Costa MFPCM, editor. 8th Iberoamerican Optics Meeting and 11th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Applications. Porto (Portugal): Proc. SPIE; 2013.
6. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Miñones M, Gilino J, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Accuracy of two osmometers on standard samples: electrical impedance technique and freezing point depression technique. In: Costa MFPCM, editor. 8th Iberoamerican Optics Meeting and 11th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Applications. Porto (Portugal): Proc. SPIE; 2013.
7. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Lira M, Real Oliveira ME, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Comparison between three methods to value lower tear meniscus measured by image software. In: Costa MFPCM, editor. 8th

- Iberoamerican Optics Meeting and 11th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Applications. Porto (Portugal): Proc. SPIE; 2013.
8. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Lira M, Penedo MG, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Interobserver and intraobserver repeatability of lipid layer pattern evaluation by two experienced observers. In: Costa MFPCM, editor. 8th Iberoamerican Optics Meeting and 11th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Applications. Porto (Portugal): Proc. SPIE; 2013.
 9. **García Resúa C**, Giráldez MJ, Barreira N, Penedo MG, Yebra-Pimentel E. Objective Categorization Of Interferential Tear Film Lipid Layer Pattern: Validation Of The Technique. Proceedings International Applications Of Optics And Photonics 2011; 8001. ISSN: 9780819485755
 10. Calvo D, Mosquera A, Penas M, **García-Resúa C**, Remeseiro B. Color texture analysis for tear film classification: a preliminary study. 7th International Conference, ICIAR 2010. Póvoa de Varzim, Portugal, June 2010. Proceedins, part II. ISSN: 0302-9743.

9.5 COMUNICACIONES A CONGRESOS

1. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Differences between morning and afternoon tear film osmolarity in normal subjects. Pilot Study. 12th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV15). Braga (Portugal) 2015.
2. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Sanchez L, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Validation of an open source software applied to tear meniscus height assessment. 12th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV15). Braga (Portugal) 2015.
3. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Correlation between tear osmolarity and tear meniscus under symptomatic clustering. 12th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV15). Braga (Portugal) 2015.
4. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Tear Film Osmolarity and dry eye symptoms. III Encontro da Mocidade Investigadora EDI-USC. Santiago de Compostela (España) 2015.
5. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Miñones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Osmolality measurement of eye drops with a freezing point depression Osmometer. 11th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV14). Braga (Portugal) 2014.
6. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Miñones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Correlation between Osmolarity and common Dry Eye Symptoms. 11th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV14). Braga (Portugal) 2014.
7. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Barreira N, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Assessment of lower tear meniscus height by ImageJ software. 11th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV14) 2014.
8. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Miñones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Medida de la osmolalidad en un grupo de soluciones salinas y multipropósito. 23 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica (OPTOM2014). Madrid. (España) 2014.
9. Pena-Verdeal H, Donis J, **García-Resua C**, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Variación diurna en la calidad de la película lagrimal de sujetos control mediante

- el tiempo de ruptura lagrimal. 23 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica (OPTOM2014). Madrid. (España) 2014.
10. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Relación entre osmolaridad y menisco lagrimal. Influencia de la edad. 23 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica (OPTOM2014). Madrid (España) 2014.
 11. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Donis J, Ramos L, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Inter-observer variation on BUT evaluation. 10th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV13). Braga (Portugal) 2013.
 12. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Miñones M, Gilino J, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Intersession repeatability of two osmometers. 10th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV13). Braga (Portugal) 2013.
 13. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Lira M, Remeseiro B, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Relationship between Interferential Lipid Layer Patterns and Tear Break-Up Time. 10th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV13). Braga (Portugal) 2013.
 14. **García-Resua C**, Pena-Verdeal H, Lira M, Real Oliveira ME, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Assessment of lateral lower Tear meniscus height by image analysis software. 10th Conference of Optometry and Vision Science (CIOCV13). Braga (Portugal) 2013.
 15. Remeseiro B, Penedo MG, **García-Resúa C**, Yebra-Pimentel E. iDEAS: Dry Eye Assessment System VII Iberoamerican Conference on Optics - XI Latinamerican meeting on Optics, Lasers and Applications (RIO-OPTILAS 2013), 22/07/2013 - 26/07/2013, Porto, Portugal, July 2013.
 16. Pena-Verdeal H, **García-Resua C**, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Diurnal variations in tear film quality in healthy subjects evaluated by break-up time. I Encontro da Mocidade Investigadora EDI-USC. Santiago de Compostela (España) 2012..
 17. **García Resúa C**, Calvo D, Mosquera A, Penedo MG, Giráldez MJ, Yebra-Pimentel E. Objective categorization of interferential tear film lipid layer pattern: validation of the technique. International Conference Applications of Optics and Photonics AOP 2011; Braga (Portugal), 3-7 de Mayo de 2011.
 18. **García Resúa C**, Calvo D, Mosquera A, Penedo MG, Giráldez MJ, Yebra-Pimentel E. New methodology for the objective evaluation of the tear film lipid layer by tearscope plus[®]. 34th BCLA Clinical Conference and Exhibition; Birmingham (Reino Unido), 27-30 de Mayo de 2010.
 19. **García Resúa C**, Giráldez MJ, García Montero S, Yebra-Pimentel E. Clasificación del patrón lipídico interferencial mediante la captura de imágenes. 21 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica; Madrid, 12-14 de Marzo de 2010.

10 BIBLIOGRAFÍA





1. Holly FJ. Tear film physiology. *Am J Optom Physiol Opt* 1980;57:252-7.
2. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001;45 Suppl 2:S203-10.
3. Craig J. Structure and function of the precocular tear film. In: Butterworth-Heinemann, editor. *The tear film, structure, function and clinical evaluation*, 2002: 18-50.
4. Lemp MA. Advances in understanding and managing dry eye disease. *Am J Ophthalmol* 2008;146:350-6.
5. Doughty MJ, Fonn D, Richter D, Simpson T, Caffery B, Gordon K. A patient questionnaire approach to estimating the prevalence of dry eye symptoms in patients presenting to optometric practices across Canada. *Optom Vis Sci* 1997;74:624-31.
6. Pritchard N, Fonn D, Brazeau D. Discontinuation of contact lens wear: a survey. *Int Contact Lens Clin* 1999;26:157-62.
7. Miljanovic B, Dana R, Sullivan DA, Schaumberg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol* 2007;143:409-15.
8. Vehof J, Zavos HM, Lachance G, Hammond CJ, Williams FM. Shared genetic factors underlie chronic pain syndromes. *Pain* 2014;155:1562-8.
9. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, Stanislavsky YL, Taylor HR. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology* 1998;105:1114-9.
10. Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology* 2003;110:1096-101.
11. Pflugfelder SC. Prevalence, burden, and pharmacoeconomics of dry eye disease. *Am J Manag Care* 2008;14:S102-6.
12. The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:93-107.
13. Albiets JM. Prevalence of dry eye subtypes in clinical optometry practice. *Optom Vis Sci* 2000;77:357-63.
14. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:75-92.
15. Foulks GN. The correlation between the tear film lipid layer and dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2007;52:369-74.
16. Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, Craig JP, McCulley JP, Den S, Foulks GN. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1930-7.
17. Zeev MS, Miller DD, Latkany R. Diagnosis of dry eye disease and emerging technologies. *Clin Ophthalmol* 2014;8:581-90.
18. Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *Ocul Surf* 2009;7:78-92.
19. Geerling G, Tauber J, Baudouin C, Goto E, Matsumoto Y, O'Brien T, Rolando M, Tsubota K, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2050-64.
20. Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea* 2004;23:272-85.

21. Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:108-52.
22. Cho P, Yap M. Schirmer test. I. A review. *Optom Vis Sci* 1993;70:152-6.
23. Tomlinson A, Blades KJ, Pearce EI. What does the phenol red thread test actually measure? *Optom Vis Sci* 2001;78:142-6.
24. Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 1996;15:653-61.
25. Elliott M, Fandrich H, Simpson T, Fonn D. Analysis of the repeatability of tear break-up time measurement techniques on asymptomatic subjects before, during and after contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye* 1998;21:98-103.
26. Cho P, Douthwaite W. The relation between invasive and noninvasive tear break-up time. *Optom Vis Sci* 1995;72:17-22.
27. Guillon JP. Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Cont Lens Anterior Eye* 1998;21 Suppl 1:S31-S40.
28. Goto E, Dogru M, Kojima T, Tsubota K. Computer-synthesis of an interference color chart of human tear lipid layer, by a colorimetric approach. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4693-7.
29. Kaido M, Dogru M, Ishida R, Tsubota K. Concept of functional visual acuity and its applications. *Cornea* 2007;26:S29-35.
30. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003;22:640-50.
31. Korb DR, Herman JP, Blackie CA, Scaffidi RC, Greiner JV, Exford JM, Finnemore VM. Prevalence of lid wiper epitheliopathy in subjects with dry eye signs and symptoms. *Cornea* 2010;29:377-83.
32. Evans KS, North RV, Purslow C. Tear ferning in contact lens wearers. *Ophthalmic Physiol Opt* 2009;29:199-204.
33. Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147:198-205 e1.
34. Souchier M, Joffre C, Gregoire S, Bretillon L, Muselier A, Acar N, Beynat J, Bron A, D'Athis P, Creuzot-Garcher C. Changes in meibomian fatty acids and clinical signs in patients with meibomian gland dysfunction after minocycline treatment. *Br J Ophthalmol* 2008;92:819-22.
35. Rivas L, Rodriguez JJ, Alvarez MI, Oroza MA, del Castillo JM. Correlation between impression cytology and tear function parameters in Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993;71:353-9.
36. Szalai E, Berta A, Szekanez Z, Szucs G, Modis L, Jr. Evaluation of tear osmolarity in non-Sjogren and Sjogren syndrome dry eye patients with the TearLab system. *Cornea* 2012;31:867-71.
37. McGinnigle S, Naroo SA, Eperjesi F. Evaluation of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2012;57:293-316.
38. Garcia-Resua C, Santodomingo-Rubido J, Lira M, Giraldez MJ, Vilar EY. Clinical assessment of the lower tear meniscus height. *Ophthalmic Physiol Opt* 2009;29:487-96.
39. Lim KJ, Lee JH. Measurement of the tear meniscus height using 0.25% fluorescein sodium. *Korean J Ophthalmol* 1991;5:34-6.
40. Savini G, Barboni P, Zanini M. Tear meniscus evaluation by optical coherence tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2006;37:112-8.

41. Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78:347-60.
42. Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer. *Curr Eye Res* 1993;12:247-54.
43. King-Smith PE, Fink BA, Nichols JJ, Nichols KK, Hill RM. Interferometric imaging of the full thickness of the precorneal tear film. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2006;23:2097-104.
44. Guillon JP. Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Cont Lens Anterior Eye* 1998;21 Suppl 1:S31-40.
45. Guillon M, Styles E, Guillon JP, Maissa C. Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 1997;74:273-9.
46. Korb DR. The tear film-its role today and in the future. In: Butterworth-Heinemann, editor. *The tear film, structure, function and clinical evaluation*, 2002: 126-92.
47. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci* 1997;74:8-13.
48. Guillon JP. Abnormal lipid layers. Observation, differential diagnosis, and classification. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:309-13.
49. Bakke JV, Wieslander G, Norback D, Moen BE. Atopy, symptoms and indoor environmental perceptions, tear film stability, nasal patency and lavage biomarkers in university staff. *Int Arch Occup Environ Health* 2008;81:861-72.
50. Lu CY, Ma YC, Lin JM, Li CY, Lin RS, Sung FC. Oxidative stress associated with indoor air pollution and sick building syndrome-related symptoms among office workers in Taiwan. *Inhal Toxicol* 2007;19:57-65.
51. Larke JR. *The eye in contact lens wear*: Butterworth-Heinemann; 1997.
52. Korb DR. *The tear film, structure, function and clinical evaluation.*: Butterworth-Heinemann; 2002.
53. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409-16.
54. Research in dry eye: report of the Research Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:179-93.
55. Prydal JI, Artal P, Woon H, Campbell FW. Study of human precorneal tear film thickness and structure using laser interferometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2006-11.
56. Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: a review. *Exp Eye Res* 2013;117:28-38.
57. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Differences in human meibum lipid composition with meibomian gland dysfunction using NMR and principal component analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:337-47.
58. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Bell J, Wells E, Neravetla S, Greenstone V. Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3805-17.
59. King-Smith PE, Bailey MD, Braun RJ. Four characteristics and a model of an effective tear film lipid layer (TFLL). *Ocul Surf* 2013;11:236-45.
60. Millar TJ, Schuett BS. The real reason for having a meibomian lipid layer covering the outer surface of the tear film - A review. *Exp Eye Res* 2015;137:125-38.

61. Miller KL, Walt JG, Mink DR, Satram-Hoang S, Wilson SE, Perry HD, Asbell PA, Pflugfelder SC. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol* 2010;128:94-101.
62. Mayorga MT. Película lagrimal: estructura y funciones. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* 2008;11:121-31.
63. Butovich IA. Lipidomics of human Meibomian gland secretions: Chemistry, biophysics, and physiological role of Meibomian lipids. *Prog Lipid Res* 2011;50:278-301.
64. Murube del Castillo J, Sociedad Española de Oftalmología (Madrid España). Congreso (Ojo seco = Dry eye. [Madrid]: Tecnimedia; 1997.
65. Hodges RR, Dartt DA. Tear film mucins: front line defenders of the ocular surface; comparison with airway and gastrointestinal tract mucins. *Exp Eye Res* 2013;117:62-78.
66. Fenga C, Aragona P, Cacciola A, Spinella R, Di Nola C, Ferreri F, Rania L. Meibomian gland dysfunction and ocular discomfort in video display terminal workers. *Eye (Lond)* 2008;22:91-5.
67. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J* 1995;21:221-32.
68. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4309-15.
69. Pflugfelder SC. Antiinflammatory therapy for dry eye. *Am J Ophthalmol* 2004;137:337-42.
70. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea* 2004;23:762-70.
71. Begley CG, Chalmers RL, Mitchell GL, Nichols KK, Caffery B, Simpson T, DuToit R, Portello J, Davis L. Characterization of ocular surface symptoms from optometric practices in North America. *Cornea* 2001;20:610-8.
72. Kawashima M, Uchino M, Kawazoe T, Kamiyashiki M, Sano K, Tsubota K. A field test of Web-based screening for dry eye disease to enhance awareness of eye problems among general Internet users: a latent strategy to promote health. *J Med Internet Res* 2013;15:e209.
73. Uchino M, Schaumberg DA, Dogru M, Uchino Y, Fukagawa K, Shimmura S, Satoh T, Takebayashi T, Tsubota K. Prevalence of dry eye disease among Japanese visual display terminal users. *Ophthalmology* 2008;115:1982-8.
74. Williamson JF, Huynh K, Weaver MA, Davis RM. Perceptions of dry eye disease management in current clinical practice. *Eye Contact Lens* 2014;40:111-5.
75. Vehof J, Kozareva D, Hysi PG, Harris J, Nessa A, Williams FK, Bennett DL, McMahon SB, Fahy SJ, Direk K, Spector TD, Hammond CJ. Relationship between dry eye symptoms and pain sensitivity. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:1304-8.
76. Saxena R, Srivastava S, Trivedi D, Anand E, Joshi S, Gupta SK. Impact of environmental pollution on the eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2003;81:491-4.
77. Torricelli AA, Novaes P, Matsuda M, Alves MR, Monteiro ML. Ocular surface adverse effects of ambient levels of air pollution. *Arq Bras Oftalmol* 2011;74:377-81.
78. Alves M, Novaes P, Morraye Mde A, Reinach PS, Rocha EM. Is dry eye an environmental disease? *Arq Bras Oftalmol* 2014;77:193-200.

79. Asonye CC, Bello ER. The blight of pollution keratoconjunctivitis among children in oil-producing industrial areas of Delta State, Nigeria. *Ecotoxicol Environ Saf* 2004;59:244-8.
80. Malerbi FK, Martins LC, Saldiva PH, Braga AL. Ambient levels of air pollution induce clinical worsening of blepharitis. *Environ Res* 2012;112:199-203.
81. McCulley JP, Aronowicz JD, Uchiyama E, Shine WE, Butovich IA. Correlations in a change in aqueous tear evaporation with a change in relative humidity and the impact. *Am J Ophthalmol* 2006;141:758-60.
82. Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics. *Arch Ophthalmol* 1995;113:155-8.
83. Nakamura S, Kinoshita S, Yokoi N, Ogawa Y, Shibuya M, Nakashima H, Hisamura R, Imada T, Imagawa T, Uehara M, Shibuya I, Dogru M, Ward S, Tsubota K. Lacrimal hypofunction as a new mechanism of dry eye in visual display terminal users. *PLoS One* 2010;5:e11119.
84. Blehm C, Vishnu S, Khattak A, Mitra S, Yee RW. Computer vision syndrome: a review. *Surv Ophthalmol* 2005;50:253-62.
85. Nichols JJ, Sinnott LT. Tear film, contact lens, and patient-related factors associated with contact lens-related dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1319-28.
86. Pritchard N, Fonn D. Dehydration, lens movement and dryness ratings of hydrogel contact lenses. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995;15:281-6.
87. Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. Dry eye after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2001;132:1-7.
88. Hovanesian JA, Shah SS, Maloney RK. Symptoms of dry eye and recurrent erosion syndrome after refractive surgery. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:577-84.
89. Miljanovic B, Trivedi KA, Dana MR, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. Relation between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr* 2005;82:887-93.
90. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R, Dalton DS. Dry eye in the beaver dam offspring study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *Am J Ophthalmol* 2014;157:799-806.
91. Onwubiko SN, Eze BI, Udeh NN, Arinze OC, Onwasigwe EN, Umeh RE. Dry eye disease: prevalence, distribution and determinants in a hospital-based population. *Cont Lens Anterior Eye* 2014;37:157-61.
92. Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, Emamian MH, Mehravaran S, Shariati M, Fotouhi A. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Experiment Ophthalmol* 2014;42:242-8.
93. Mertzanis P, Abetz L, Rajagopalan K, Espindle D, Chalmers R, Snyder C, Caffery B, Edrington T, Simpson T, Nelson JD, Begley C. The relative burden of dry eye in patients' lives: comparisons to a U.S. normative sample. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:46-50.
94. O'Brien PD, Collum LM. Dry eye: diagnosis and current treatment strategies. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004;4:314-9.
95. Valtysdottir ST, Gudbjornsson B, Lindqvist U, Hallgren R, Hetta J. Anxiety and depression in patients with primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2000;27:165-9.
96. Buchholz P, Steeds CS, Stern LS, Wiederkehr DP, Doyle JJ, Katz LM, Figueiredo FC. Utility assessment to measure the impact of dry eye disease. *Ocul Surf* 2006;4:155-61.

97. Schiffman RM, Walt JG, Jacobsen G, Doyle JJ, Lebovics G, Sumner W. Utility assessment among patients with dry eye disease. *Ophthalmology* 2003;110:1412-9.
98. Tutt R, Bradley A, Begley C, Thibos LN. Optical and visual impact of tear breakup in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4117-23.
99. Reddy P, Grad O, Rajagopalan K. The economic burden of dry eye: a conceptual framework and preliminary assessment. *Cornea* 2004;23:751-61.
100. Yamada M, Mizuno Y, Shigeyasu C. Impact of dry eye on work productivity. *Clinicoecon Outcomes Res* 2012;4:307-12.
101. Waduthantri S, Yong SS, Tan CH, Shen L, Lee MX, Nagarajan S, Hla MH, Tong L. Cost of dry eye treatment in an Asian clinic setting. *PLoS One* 2012;7:e37711.
102. Clegg JP, Guest JF, Lehman A, Smith AF. The annual cost of dry eye syndrome in France, Germany, Italy, Spain, Sweden and the United Kingdom among patients managed by ophthalmologists. *Ophthalmic Epidemiol* 2006;13:263-74.
103. Yu J, Asche CV, Fairchild CJ. The economic burden of dry eye disease in the United States: a decision tree analysis. *Cornea* 2011;30:379-87.
104. Patel VD, Watanabe JH, Strauss JA, Dubey AT. Work productivity loss in patients with dry eye disease: an online survey. *Curr Med Res Opin* 2011;27:1041-8.
105. Hirsch JD, Morello C, Singh R, Robbins SL. Pharmacoeconomics of new medications for common chronic ophthalmic diseases. *Surv Ophthalmol* 2007;52:618-33.
106. Mizuno Y, Yamada M, Shigeyasu C. Annual direct cost of dry eye in Japan. *Clin Ophthalmol* 2012;6:755-60.
107. McMonnies CW. Key questions in a dry eye history. *J Am Optom Assoc* 1986;57:512-7.
108. Bandeen-Roche K, Munoz B, Tielsch JM, West SK, Schein OD. Self-reported assessment of dry eye in a population-based setting. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2469-75.
109. Mangione CM, Lee PP, Pitts J, Gutierrez P, Berry S, Hays RD. Psychometric properties of the National Eye Institute Visual Function Questionnaire (NEI-VFQ). NEI-VFQ Field Test Investigators. *Arch Ophthalmol* 1998;116:1496-504.
110. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol* 2000;118:615-21.
111. Begley CG, Chalmers RL, Abetz L, Venkataraman K, Mertzanis P, Caffery BA, Snyder C, Edrington T, Nelson D, Simpson T. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4753-61.
112. Rajagopalan K, Abetz L, Mertzanis P, Espindle D, Begley C, Chalmers R, Caffery B, Snyder C, Nelson JD, Simpson T, Edrington T. Comparing the discriminative validity of two generic and one disease-specific health-related quality of life measures in a sample of patients with dry eye. *Value Health* 2005;8:168-74.
113. Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (Lond)* 1991;5 (Pt 4):395-411.
114. McNamara NA, Fusaro RE, Brand RJ, Polse KA, Srinivas SP. Measurement of corneal epithelial permeability to fluorescein. A repeatability study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:1830-9.
115. Kim J, Foulks GN. Evaluation of the effect of lissamine green and rose bengal on human corneal epithelial cells. *Cornea* 1999;18:328-32.

116. Doughty MJ, Glavin S. Efficacy of different dry eye treatments with artificial tears or ocular lubricants: a systematic review. *Ophthalmic Physiol Opt* 2009;29:573-83.
117. Korb DR, Herman JP, Finnemore VM, Exford JM, Blackie CA. An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining. *Eye Contact Lens* 2008;34:61-4.
118. van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. *Arch Ophthalmol* 1969;82:10-4.
119. Korb DR, Herman JP, Greiner JV, Scaffidi RC, Finnemore VM, Exford JM, Blackie CA, Douglass T. Lid wiper epitheliopathy and dry eye symptoms. *Eye Contact Lens* 2005;31:2-8.
120. Donald C, Hamilton L, Doughty M. A quantitative assessment of the location and width of Marx's line along the marginal zone of the human eyelid. *Optom Vis Sci* 2003;80:564-72.
121. Serin D, Karsloglu S, Kyan A, Alagoz G. A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed? *Cornea* 2007;26:903-6.
122. Karampatakis V, Karamitsos A, Skriapa A, Pasiadis G. Comparison between normal values of 2- and 5-minute Schirmer test without anesthesia. *Cornea* 2010;29:497-501.
123. Hamano H, Hori M, Hamano T, Mitsunaga S, Maeshima J, Kojima S, Kawabe H. A new method for measuring tears. *CLAO J* 1983;9:281-9.
124. Kwong YM, Cho P. Evaluation of a self-prepared cotton thread test (SP-CTT) and the Phenol Red Thread (PRT) test. *Cont Lens Anterior Eye* 1998;21:11-4.
125. Saleh TA, McDermott B, Bates AK, Ewings P. Phenol red thread test vs Schirmer's test: a comparative study. *Eye (Lond)* 2006;20:913-5.
126. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, Feuer W, Reis BL. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998;17:38-56.
127. Xu KP, Tsubota K. Correlation of tear clearance rate and fluorophotometric assessment of tear turnover. *Br J Ophthalmol* 1995;79:1042-5.
128. Tomlinson A, Doane MG, McFadyen A. Inputs and outputs of the lacrimal system: review of production and evaporative loss. *Ocul Surf* 2009;7:186-98.
129. Vico E, Benitez del Castillo JM, Gimenez RA, Fernandez C, Garcia Sanchez J. [Tear function index validation for dry eye diagnosis]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2004;79:265-71.
130. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. Effect of fluorescein instillation on the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res* 1985;4:9-12.
131. Cho P, Brown B, Chan I, Conway R, Yap M. Reliability of the tear break-up time technique of assessing tear stability and the locations of the tear break-up in Hong Kong Chinese. *Optom Vis Sci* 1992;69:879-85.
132. Abelson R, Lane KJ, Rodriguez J, Johnston P, Angjeli E, Ousler G, Montgomery D. A single-center study evaluating the effect of the controlled adverse environment (CAE(SM)) model on tear film stability. *Clin Ophthalmol* 2012;6:1865-72.
133. Patel S, Murray D, McKenzie A, Shearer DS, McGrath BD. Effects of fluorescein on tear breakup time and on tear thinning time. *Am J Optom Physiol Opt* 1985;62:188-90.

134. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res* 1985;4:1-7.
135. Liu Z, Pflugfelder SC. Corneal surface regularity and the effect of artificial tears in aqueous tear deficiency. *Ophthalmology* 1999;106:939-43.
136. Gumus K, Crockett CH, Rao K, Yeu E, Weikert MP, Shirayama M, Hada S, Pflugfelder SC. Noninvasive assessment of tear stability with the tear stability analysis system in tear dysfunction patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:456-61.
137. Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol* 2002;133:181-6.
138. Ishida R, Kojima T, Dogru M, Kaido M, Matsumoto Y, Tanaka M, Goto E, Tsubota K. The application of a new continuous functional visual acuity measurement system in dry eye syndromes. *Am J Ophthalmol* 2005;139:253-8.
139. Garg A. Ojo seco y otros trastornos de la superficie ocular : diagnóstico y tratamiento en xerodacriología. Madrid [etc.]: Médica Panamericana; 2008.
140. Butovich IA, Millar TJ, Ham BM. Understanding and analyzing meibomian lipids--a review. *Curr Eye Res* 2008;33:405-20.
141. Hecht E. *Optica* / Eugene Hecht, 3{487} ed ed. Madrid: Addison Wesley; 1999.
142. Doane MG. An instrument for in vivo tear film interferometry. *Optom Vis Sci* 1989;66:383-8.
143. Nichols JJ, Nichols KK, Puent B, Saracino M, Mitchell GL. Evaluation of tear film interference patterns and measures of tear break-up time. *Optom Vis Sci* 2002;79:363-9.
144. Stahl U, Willcox M, Stapleton F. Osmolality and tear film dynamics. *Clin Exp Optom* 2012;95:3-11.
145. Erstad BL. Osmolality and osmolarity: narrowing the terminology gap. *Pharmacotherapy* 2003;23:1085-6.
146. Tomlinson A, McCann LC, Pearce EI. Comparison of human tear film osmolarity measured by electrical impedance and freezing point depression techniques. *Cornea* 2010;29:1036-41.
147. Yildiz EH, Fan VC, Banday H, Ramanathan LV, Bitra RK, Garry E, Asbell PA. Evaluation of a new tear osmometer for repeatability and accuracy, using 0.5-microL (500-Nanoliter) samples. *Cornea* 2009;28:677-80.
148. Pensyl CD, Benjamin WJ. Vapor pressure osmometry: minimum sample microvolumes. *Acta Ophthalmol Scand* 1999;77:27-30.
149. Farris RL. Tear osmolarity--a new gold standard? *Adv Exp Med Biol* 1994;350:495-503.
150. Gilbard JP, Farris RL, Santamaria J, 2nd. Osmolarity of tear microvolumes in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1978;96:677-81.
151. Lucca JA, Nunez JN, Farris RL. A comparison of diagnostic tests for keratoconjunctivitis sicca: lactoplate, Schirmer, and tear osmolarity. *CLAO J* 1990;16:109-12.
152. Alves M, Reinach PS, Paula JS, Vellasco e Cruz AA, Bachellet L, Faustino J, Aranha FP, Vigorito A, de Souza CA, Rocha EM. Comparison of diagnostic tests in distinct well-defined conditions related to dry eye disease. *PLoS One* 2014;9:e97921.
153. Bron AJ, Tiffany JM, Yokoi N, Gouveia SM. Using osmolarity to diagnose dry eye: a compartmental hypothesis and review of our assumptions. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1087-95.

154. Khanal S, Tomlinson A, McFadyen A, Diaper C, Ramaesh K. Dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1407-14.
155. Glasson MJ, Stapleton F, Keay L, Sweeney D, Willcox MD. Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:5116-24.
156. McMonnies C, Ho A, Wakefield D. Optimum dry eye classification using questionnaire responses. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:835-8.
157. Johnson ME, Murphy PJ. Measurement of ocular surface irritation on a linear interval scale with the ocular comfort index. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4451-8.
158. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The reliability and validity of McMonnies Dry Eye Index. *Cornea* 2004;23:365-71.
159. Pult H, Purslow C, Murphy PJ. The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye (Lond)* 2011;25:502-10.
160. Nichols KK, Foulks GN, Bron AJ, Glasgow BJ, Dogru M, Tsubota K, Lemp MA, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1922-9.
161. Ofri R, Orgad K, Kass PH, Dikstein S. Canine meibometry: establishing baseline values for meibomian gland secretions in dogs. *Vet J* 2007;174:536-40.
162. de Paiva CS, Lindsey JL, Pflugfelder SC. Assessing the severity of keratitis sicca with videokeratographic indices. *Ophthalmology* 2003;110:1102-9.
163. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ishida R, Kojima T, Onguchi T, Yagi Y, Shimazaki J, Tsubota K. Efficacy of a new warm moist air device on tear functions of patients with simple meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2006;25:644-50.
164. Matsumoto Y, Sato EA, Ibrahim OM, Dogru M, Tsubota K. The application of in vivo laser confocal microscopy to the diagnosis and evaluation of meibomian gland dysfunction. *Mol Vis* 2008;14:1263-71.
165. Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Furuta A, Fukuoka S, Tomidokoro A, Amano S. Proposed diagnostic criteria for obstructive meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology* 2009;116:2058-63 e1.
166. Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: introduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1917-21.
167. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991;10:277-85.
168. Nichols JJ, Berntsen DA, Mitchell GL, Nichols KK. An assessment of grading scales for meibography images. *Cornea* 2005;24:382-8.
169. Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1266-70.
170. Nagymihalyi A, Dikstein S, Tiffany JM. The influence of eyelid temperature on the delivery of meibomian oil. *Exp Eye Res* 2004;78:367-70.
171. Chew CK, Hykin PG, Jansweijer C, Dikstein S, Tiffany JM, Bron AJ. The casual level of meibomian lipids in humans. *Curr Eye Res* 1993;12:255-9.
172. Komuro A, Yokoi N, Kinoshita S, Tiffany JM, Bron AJ, Suzuki T. Assessment of meibomian gland function by a newly-developed laser meibometer. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:517-20.
173. Yokoi N, Mossa F, Tiffany JM, Bron AJ. Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry. *Arch Ophthalmol* 1999;117:723-9.
174. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI, Yee R, Yokoi N, Arita R, Dogru M. The international workshop on meibomian gland

- dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:2006-49.
175. Benz P, Tichy A, Nell B. Review of the measuring precision of the new Meibometer MB550 through repeated measurements in dogs. *Vet Ophthalmol* 2008;11:368-74.
 176. Lamberts DW, Foster CS, Perry HD. Schirmer test after topical anesthesia and the tear meniscus height in normal eyes. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1082-5.
 177. Miller WL, Doughty MJ, Narayanan S, Leach NE, Tran A, Gaume AL, Bergmanson JP. A comparison of tear volume (by tear meniscus height and phenol red thread test) and tear fluid osmolality measures in non-lens wearers and in contact lens wearers. *Eye Contact Lens* 2004;30:132-7.
 178. Johnson ME, Murphy PJ. The agreement and repeatability of tear meniscus height measurement methods. *Optom Vis Sci* 2005;82:1030-7.
 179. Santodomingo-Rubido J, Wolffsohn JS, Gilmartin B. Comparison between graticule and image capture assessment of lower tear film meniscus height. *Cont Lens Anterior Eye* 2006;29:169-73.
 180. Oguz H, Yokoi N, Kinoshita S. The height and radius of the tear meniscus and methods for examining these parameters. *Cornea* 2000;19:497-500.
 181. Yokoi N, Bron AJ, Tiffany JM, Kinoshita S. Reflective meniscometry: a new field of dry eye assessment. *Cornea* 2000;19:S37-43.
 182. Fukuda R, Usui T, Miyai T, Yamagami S, Amano S. Tear meniscus evaluation by anterior segment swept-source optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2013;155:620-4, 4 e1-2.
 183. Miller KL, Polse KA, Radke CJ. Black-line formation and the "perched" human tear film. *Curr Eye Res* 2002;25:155-62.
 184. Korb DR. Survey of preferred tests for diagnosis of the tear film and dry eye. *Cornea* 2000;19:483-6.
 185. Nichols KK, Nichols JJ, Zadnik K. Frequency of dry eye diagnostic test procedures used in various modes of ophthalmic practice. *Cornea* 2000;19:477-82.
 186. Fodor E, Hagyo K, Resch M, Somodi D, Nemeth J. Comparison of Tearscope-plus versus slit lamp measurements of inferior tear meniscus height in normal individuals. *Eur J Ophthalmol* 2010;20:819-24.
 187. Y S, M Y, A S, H K, Y O. Evaluation of tear meniscus volume using the DR-1 tear specular scope. *Nippon Ganka Gakkai zasshi* 2010;114:512-9.
 188. Czajkowski G, Kaluzny BJ, Laudenska A, Malukiewicz G, Kaluzny JJ. Tear meniscus measurement by spectral optical coherence tomography. *Optom Vis Sci* 2012;89:336-42.
 189. Nguyen P, Huang D, Li Y, Sadda SR, Ramos S, Pappuru RR, Yiu SC. Correlation between optical coherence tomography-derived assessments of lower tear meniscus parameters and clinical features of dry eye disease. *Cornea* 2012;31:680-5.
 190. Doughty MJ, Laiquzzaman M, Oblak E, Button N. The tear (lacrimal) meniscus height in human eyes: a useful clinical measure or an unusable variable sign? *Cont Lens Anterior Eye* 2002;25:57-65.
 191. Uchida A, Uchino M, Goto E, Hosaka E, Kasuya Y, Fukagawa K, Dogru M, Ogawa Y, Tsubota K. Noninvasive interference tear meniscometry in dry eye patients with Sjogren syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;144:232-7.
 192. Patel S, Wallace I. Tear meniscus height, lower punctum lacrimale, and the tear lipid layer in normal aging. *Optom Vis Sci* 2006;83:731-9.

193. Kwong YM, Cho P. Tear meniscus height in normal and dry eyes. *Optom Today* 2001;4124:28-32.
194. Guillon JP, Guillon M. The role of tears in contact lens performance and its measurement. In: Guillon RMaM, editor. *Contact lens practice* London: Chapman and Hall Medical, 1994: 453–83.
195. Bandlitz S, Purslow C, Murphy PJ, Pult H. The relationship between tear meniscus regularity and conjunctival folds. *Optom Vis Sci* 2014;91:1037-44.
196. Mishima S, Gasset A, Klyce SD, Jr., Baum JL. Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol* 1966;5:264-76.
197. Port MJA, Asaria TS. The assessment of human tear flow. *J Contact Lens Assoc* 1990;13:76-82.
198. Johnson ME, Murphy PJ. The Effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea* 2005;24:811-7.
199. Soper JW. Method of diagnosing deficiency of aqueous tears. *Contact Lens Spectr* 1993;8:31-5.
200. Khurana AK, Chaudhary R, Ahluwalia BK, Gupta S. Tear film profile in dry eye. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1991;69:79-86.
201. Farris RL, Stuchell RN, Nisengard R. Sjogren's syndrome and keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 1991;10:207-9.
202. Guillon JP, Young G. Subtle signs of sicca: advanced tear film assessment. *Contact Lens Spectr* 1999;14:45-8.
203. Benelli U, Nardi M, Posarelli C, Albert TG. Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:61-7.
204. Sebbag L, Kass PH, Maggs DJ. Reference values, intertest correlations, and test-retest repeatability of selected tear film tests in healthy cats. *J Am Vet Med Assoc* 2015;246:426-35.
205. Abelson MB, Ousler GW, 3rd, Nally LA, Welch D, Krenzer K. Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1121-5.
206. Julio G, Lluch S, Pujol P, Merindano MD. Effects of tear hyperosmolarity on conjunctival cells in mild to moderate dry eye. *Ophthalmic Physiol Opt* 2012;32:317-23.
207. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012;9:671-5.
208. Armstrong RA, Davies LN, Dunne MC, Gilmartin B. Statistical guidelines for clinical studies of human vision. *Ophthalmic Physiol Opt* 2011;31:123-36.
209. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1:307-10.
210. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107-26.
211. Aydogdu S, Ertekin K, Suslu A, Ozdemir M, Celik E, Cocen U. Optical CO₂ sensing with ionic liquid doped electrospun nanofibers. *J Fluoresc* 2011;21:607-13.
212. de AFGB, Santhiago MR, de Azevedo MN, Moraes HV, Jr. Evaluation of dry eye signs and symptoms in patients with systemic sclerosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:1051-6.
213. Garcia-Resua C, Pena-Verdeal H, Remeseiro B, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Correlation between Tear Osmolarity and Tear Meniscus. *Optom Vis Sci* 2014.

214. McMonnies CW, Ho A, Wakefield D. Optimum dry eye classification using questionnaire responses. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:835 - 8
215. Versua P, Profazio V, Campos E. A critical look at meibometry as a means to monitor Meibomian gland function. *Acta Ophthalmologica* 2010;88:1.
216. Ring MH, Rabensteiner DF, Horwath-Winter J, Boldin I, Horantner R, Haslwanter T. Introducing a new parameter for the assessment of the tear film lipid layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:6638-44.
217. McMonnies CW, Ho A. Responses to a dry eye questionnaire from a normal population. *J Am Optom Assoc* 1987;58:588-91.
218. Moore JE, Graham JE, Goodall EA, Dartt DA, Leccisotti A, McGilligan VE, Moore TC. Concordance between common dry eye diagnostic tests. *Br J Ophthalmol* 2009;93:66-72.
219. Isenberg SJ, Del Signore M, Chen A, Wei J, Guillon JP. The lipid layer and stability of the precocular tear film in newborns and infants. *Ophthalmology* 2003;110:1408-11.
220. Maissa C, Guillon M. Tear film dynamics and lipid layer characteristics--effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye* 2010;33:176-82.
221. Calvo D, Mosquera A, Penas M, Garcia Resua C, Remeseiro B. Color texture analysis for tear film classification: a preliminary study. *Lect Notes Comput Sci* 2010;6122:388-97.
222. King-Smith PE, Fink BA, Fogt N. Three interferometric methods for measuring the thickness of layers of the tear film. *Optom Vis Sci* 1999;76:19-32.
223. EASYTEARview. [Available at: <http://www.easytearviewplus.com/it/>. Accessed];
224. Ogasawara K, Mitsubayashi K, Tsuru T, Karube I. Electrical conductivity of tear fluid in healthy persons and keratoconjunctivitis sicca patients measured by a flexible conductimetric sensor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:542-6.
225. Belhouachi N, Jaisson S, Garnotel R, Gillery P. [Comparison of two osmometers at the clinical chemistry laboratory]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2007;65:545-9.
226. White KM, Benjamin WJ, Hill RM. Human basic tear fluid osmolality. I. Importance of sample collection strategy. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993;71:524-9.
227. Khanal S, Millar TJ. Barriers to clinical uptake of tear osmolarity measurements. *Br J Ophthalmol* 2012;96:341-4.
228. Yoon D, Gadaria-Rathod N, Oh C, Asbell PA. Precision and Accuracy of TearLab Osmometer in Measuring Osmolarity of Salt Solutions. *Curr Eye Res* 2014.
229. Gilbard JP. Human tear film electrolyte concentrations in health and dry-eye disease. *Int Ophthalmol Clin* 1994;34:27-36.
230. Farris RL, Stuchell RN, Mandel ID. Basal and reflex human tear analysis. I. Physical measurements: osmolality, basal volumes, and reflex flow rate. *Ophthalmology* 1981;88:852-7.
231. Gokhale M, Stahl U, Jalbert I. In situ osmometry: validation and effect of sample collection technique. *Optom Vis Sci* 2013;90:359-65.
232. Jacobi C, Jacobi A, Kruse FE, Cursiefen C. Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology. *Cornea* 2011;30:1289-92.
233. Masmali A, Alrabiah S, Alharbi A, El-Hiti GA, Almubrad T. Investigation of tear osmolarity using the TearLab Osmolarity System in normal adults in Saudi Arabia. *Eye Contact Lens* 2014;40:74-8.

234. Messmer EM, Bulgen M, Kampik A. Hyperosmolarity of the tear film in dry eye syndrome. *Dev Ophthalmol* 2010;45:129-38.
235. Mathers WD, Lane JA, Sutphin JE, Zimmerman MB. Model for ocular tear film function. *Cornea* 1996;15:110-9.
236. Gilbard JP, Farris RL. Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1642-6.
237. Muselier-Mathieu A, Bron AM, Mathieu B, Souchier M, Brignole-Baudouin F, Acar N, Bretillon L, Creuzot-Garcher C. Ocular surface assessment in soft contact lens wearers; the contribution of tear osmolarity among other tests. *Acta Ophthalmol* 2014;92:364-9.
238. Eperjesi F, Aujla M, Bartlett H. Reproducibility and repeatability of the OcuSense TearLab osmometer. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:1201-5.
239. Eter N, Gobbels M. A new technique for tear film fluorophotometry. *Br J Ophthalmol* 2002;86:616-9.
240. Li M, Du C, Zhu D, Shen M, Cui L, Wang J. Daytime variations of tear osmolarity and tear meniscus volume. *Eye Contact Lens* 2012;38:282-7.
241. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, Pepose JS, Kosheleff V, Porreco A, Lemp MA. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:6125-30.
242. Murube J. Tear osmolarity. *Ocul Surf* 2006;4:62-73.
243. Wolffsohn JS, Purslow C. Clinical monitoring of ocular physiology using digital image analysis. *Cont Lens Anterior Eye* 2003;26:27-35.
244. Fieguth P, Simpson T. Automated measurement of bulbar redness. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:340-7.
245. Lemp MA, Holly FJ, Iwata S, Dohlman CH. The precorneal tear film. I. Factors in spreading and maintaining a continuous tear film over the corneal surface. *Arch Ophthalmol* 1970;83:89-94.
246. Papas EB. Key factors in the subjective and objective assessment of conjunctival erythema. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:687-91.
247. Pult H, Riede-Pult B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Cont Lens Anterior Eye* 2013;36:22-7.
248. Srinivasan S, Menzies K, Sorbara L, Jones L. Infrared imaging of meibomian gland structure using a novel keratograph. *Optom Vis Sci* 2012;89:788-94.
249. Gottsch JD, Sundin OH, Rencs EV, Emmert DG, Stark WJ, Cheng CJ, Schmidt GW. Analysis and documentation of progression of Fuchs corneal dystrophy with retroillumination photography. *Cornea* 2006;25:485-9.
250. Kagemann L, Wollstein G, Ishikawa H, Sigal IA, Folio LS, Xu J, Gong H, Schuman JS. 3D visualization of aqueous humor outflow structures in-situ in humans. *Exp Eye Res* 2011;93:308-15.
251. Albietz JM. Dry eye: an update on clinical diagnosis, management and promising new treatments. *Clin Exp Optom* 2001;84:4-18.
252. Yokoi N, Komuro A. Non-invasive methods of assessing the tear film. *Exp Eye Res* 2004;78:399-407.
253. Ozdemir M, Temizdemir H. Age- and gender-related tear function changes in normal population. *Eye (Lond)* 2010;24:79-83.



11 ANEXOS





ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Consentimiento informado para el estudio.

D/Dña _____ con DNI _____ edad _____ años, con domicilio en _____ provincia de _____ manifiesto que he sido informado/a por _____ sobre los siguientes aspectos en cuanto a mi participación en el estudio arriba mencionado.

1. He leído la hoja de información que se me ha entregado.
2. Mi participación en este estudio es de forma voluntaria.
3. Acepto que se me realicen las exploraciones optométricas necesarias para el desarrollo del estudio.
4. Conozco y asumo los efectos secundarios que se puedan derivar de este estudio y que me han explicado los investigadores.
5. He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el estudio.
6. He hablado con el equipo investigador abajo firmante.

Por lo que declaro que todas mis dudas y preguntas han sido aclaradas, que he comprendido que mi participación es voluntaria y que comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos. Por ello doy mi consentimiento para participar en el estudio.

En Santiago de Compostela, a.....de.....de 201__

Firma del paciente

Firma del Investigador

Estoy de acuerdo en que mis datos personales relativos a este trabajo sean almacenados, procesados electrónicamente y transmitidos, con propósitos de análisis de los datos derivados de este estudio. Doy mi consentimiento para que el personal autorizado del Servicio de Optometría o las autoridades sanitarias revisen que el estudio se está llevando a cabo de manera correcta e inspeccionen mi historial referente a mi colaboración en el mismo.

Así mismo autorizo a mi investigador a que revele la información necesaria recogida en el estudio para que pueda ser procesada, sin que se revele mi identidad.

Fecha

ANEXO 2. CUESTIONARIO MCMONNIES



Cuestionario de ojo seco (Mc Monnies)

Nombre: _____ **Fecha:** ____/____/____

Por favor, marque con una cruz la opción correcta:

Hombre: Mujer:

Edad: Menos de 25 años 25- 45 años Más de 45 años

¿Actualmente usuario de lentes de contacto?

no sí, lentes de contacto rígidas sí, lentes de contacto blandas

1) ¿Padece alguno de los siguientes síntomas oculares?:

Picor: Sequedad: Sensación de arenilla:

Quemazón: Molestia/ dolor:

¿Con qué frecuencia?:

Siempre: Casi siempre: Algunas veces: Nunca:

2) ¿Le han prescrito alguna vez algún tratamiento para ojo seco?:

Si: No: No lo se: ¿Cuál?:

3) ¿Padece artritis?

Si: No: No lo se:

4) ¿Tiene problemas de tiroides?

Si: No: No lo se:

5) ¿Tiene problemas de sequedad de las mucosas (nariz, boca, garganta, pecho o vagina)?

Nunca: A veces: A menudo: Constantemente:

6) ¿Cree que sus ojos son especialmente sensibles al humo, aire acondicionado o calefacción?:

Si: No: A veces:

7) ¿Se le ponen los ojos muy rojos e irritados al nadar en piscinas?

Si: No: A veces: No aplicable:

8) ¿Está tomando algún medicamento?:

Antihistamínicos (gotas o pastillas):

Diuréticos:

Tranquilizantes:

Pastillas para dormir:

Anticonceptivos orales:

Pastillas para la presión de la sangre:

Pastillas para problemas digestivos o intestinales:

Otro: ¿Cuál?

9) ¿Están sus ojos secos e irritados el día después de beber alcohol?

Si: No: A veces: No aplicable:

10) ¿Sabe si duerme con los ojos abiertos?

Si: No: A veces: No lo se:

11) ¿Le molestan los ojos al levantarse por la mañana?:

Si: No: A veces:

ANEXO 3. CUESTIONARIO OSDI

OCULAR SURFACE DISEASE INDEX (OSDI)

Nombre:

Fecha / /

Realice a su paciente las siguientes 12 preguntas, y rodee con un círculo el número en la casilla que mejor represente cada respuesta. A continuación, rellena las casillas A, B, C, D y E de acuerdo a las instrucciones.

¿Ha experimentado cualquiera de los siguientes síntomas durante la última semana?

	Todo el Tiempo	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca
1. Los ojos sensibles a la luz	4	3	2	1	0
2. Ojos con sensación arenosa	4	3	2	1	0
3. Ojos doloridos o inflamados	4	3	2	1	0
4. Visión borrosa	4	3	2	1	0
5. Visión pobre	4	3	2	1	0
Puntuación total de las preguntas de la 1 a la 5					(A)

¿Ha experimentado problema con sus ojos que le impidieran realizar alguna de las siguientes actividades durante la última semana?

	Todo el Tiempo	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca	N/A
6. Leer	4	3	2	1	0	N/A
7. Conducir de noche	4	3	2	1	0	N/A
8. Trabajar con el ordenador	4	3	2	1	0	N/A
9. Ver la televisión	4	3	2	1	0	N/A
Puntuación total de las preguntas de la 6 a la 9					(B)	

¿Ha experimentado incomodidad en alguna de las siguientes situaciones durante la última semana?

	Todo el Tiempo	La mayor parte del tiempo	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca	N/A
10. Condiciones de viento	4	3	2	1	0	N/A
11. Zonas de baja humedad o secas	4	3	2	1	0	N/A
12. Zonas con aire acondicionado	4	3	2	1	0	N/A
Puntuación total de las preguntas de la 10 a la 12					(C)	

Suma los subtotales A, B y C para obtener D (D = suma de las calificaciones de todas las respuestas a las preguntas)	(D)
El valor E es el total de respuestas respondidas (sin contar las marcadas como N/A)	(E)
Los valores para determinar la gravedad del ojo seco mediante la fórmula OSDI ©	(OSDI)