ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL
DE LA USC

Belén
Sabucedo Villamarín

Tesis doctoral

Enfermedad de ojo seco: análisis de la evolución natural y nuevos criterios diagnósticos de subtipos de ojo seco

Santiago de Compostela, 2025

Programa de doctorado en Medicina Molecular

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

ENFERMEDAD DE OJO SECO: ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN NATURAL Y NUEVOS CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE SUBTIPOS DE OJO SECO

Autor

Belén Sabucedo Villamarín

Directoras: Eva Yebra-Pimentel Vilar y María Jesús Giráldez Fernández

Tutora: Eva Yebra-Pimentel Vilar

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA MOLECULAR

SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RELACIÓN DE LAS PUBLICACIONES

Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. (2022). Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life Basel*, 12(12), 2007.

Factor de impacto (Año): 3,2 (2022); Cuartil (Posición): Q2 (34/92)

Sabucedo-Villamarin B, Garcia-Queirua J, Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. (2025). Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment. *Journal of Clinical Medicine,* 14(2), 623.

Factor de impacto (Año): 3,0 (2023); Cuartil (Posición): Q1 (59/329)

Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. (2023). Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease. *The ocular Surface,* 298-300.

Factor de impacto (Año): 6,0 (2023); Cuartil (Posición): Q1 (4/95)

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

La doctoranda declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la presente tesis.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar este manuscrito, es inevitable mirar atrás y reflexionar sobre todo lo que he recorrido durante estos cinco años. Cada paso, ha sido una parte esencial de este proceso, que jamás habría sido posible sin el apoyo de quienes me han acompañado. Este viaje no ha sido un esfuerzo en solitario, y por ello quiero expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas las personas, que de manera consciente o inconsciente, han sido parte fundamental de que esta Tesis Doctoral hoy sea una realidad.

Primeramente, agradecer a mis directoras, Eva Yebra-Pimentel y María Jesús Giráldez, por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, contando con su orientación y confianza a lo largo de este proceso.

A mis compañeros de grupo, que se han convertido en una pequeña familia, no solo por reunirnos todos los días alrededor de una mesa a comer, sino también por el apoyo incondicional que nos hemos brindado mutuamente. Juntos hemos celebrado los éxitos de cada uno como si fueran propios, siempre con un grito de «¡chupito!» de por medio. Este grupo ha creado lazos que van más allá de lo académico y quedarán para siempre en mi corazón. A Hugo, el comandante de esta nave, siempre con palabras positivas y de ánimo, incluso en los momentos más oscuros, cuando uno no podía ver la luz. A Jacobo, nuestro «multitasking», siempre encontrando la manera de ayudarnos a todos en lo que sea, gracias por estar desde los inicios proporcionándome tantos consejos vitales y sobre todo tu amistad. A Vero y Noe, me habéis dejado huella al convertirnos en amigas más que compañeras, gracias por todo lo que me habéis ayudado, por las risas y por los miles de momentos que siempre llevaré conmigo. A Alba, que en poco tiempo te has convertido en otra más de nosotros compartiendo tan buenos momentos, gracias también a ti por haber formado parte de esto. Y, por último, pero no menos importante, a Carlos, porque fuiste ese profesor que marca la diferencia, el que no sólo enseña, sino que inspira y quién sembró la semilla de la curiosidad por la investigación, gracias.

A Rebe y Antía, mis amigas, pero más que amigas, mis otras hermanas. Sois esa red de apoyo incondicional que siempre me ha dado seguridad, ese refugio donde siempre puedo encontrar fuerza. Habéis creído en este proceso y en mí más de lo que yo misma lo hice en muchos momentos. Gracias por todo lo que me habéis dado desde que nuestras vidas se cruzaron. Esto también es un pedacito vuestro, porque sin vuestra amistad y confianza, este camino no habría sido el mismo.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A Adrián, a ti “Chu”, mi compañero de vida. No existen palabras suficientes para expresar lo agradecida que estoy por haber estado siempre a mi lado en este viaje. Te has esforzado por comprender cada pequeño paso que daba, alegrándote por mis logros, incluso cuando no entendías del todo de qué te hablaba. Sin ti, sin tu apoyo, cariño y paciencia esto tampoco habría sido posible.

Y, por último, a mi familia. A mi hermana Andrea, que siempre ha guiado mi vida, siendo la mujer más inteligente y fuerte que he conocido. Gracias por todo lo que me has dado, eres la mejor hermana que he podido tener. A mi padre, Luis, y a mi madre, María Rita, quienes siempre se han esforzado y lo han dado todo por nosotras, incluso renunciando a su bienestar para que pudiéramos lograr todo aquello que deseábamos. Sois nuestro pilar, y estoy profundamente orgullosa de ser vuestra hija. Gracias por vuestro amor incondicional, apoyo constante y guía a lo largo de toda mi vida. Este logro ha sido posible gracias a muchas personas, pero sin duda, el papel esencial lo habéis tenido vosotros. Papá, mamá, Andrea, lo hemos conseguido.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

LISTA DE ABREVIATURAS

ADDE	Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye)
AUC	Área Bajo la Curva (Area Under the Curve)
DE	Deviación Estándar
DED	Enfermedad del Ojo Seco (Dry Eye Disease)
DEQ	Dry Eye Questionnaire
DEQ-5	Dry Eye Questionnaire-5
EDE	Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye)
IC	Intervalo de Confianza (Confidence Interval)
IDEEL	Impact of Dry Eye on Everyday Living
Ig	Inmunoglobulinas
IL	Interleucinas
IQR	Rango Intercuartílico (Intercuartile Range)
LFU	Unidad Funcional Lagrimal (Lacrimal Functional Unit)
LLP	Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern)
LLP-C	Esquema de Características del Color de los Patrones Lipídicos Interferenciales (Lipid Layer Patterns following the Colour Scheme
LLP-G	Esquema básico de Patrones Lipídicos proporcionado por Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme)
LoA	Límites de Concordancia (Limits of agreement)
MBI	Máximo Intervalo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval)
MDE	Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye)
MG	Glándulas de Meibomio (Meibomian Glands)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

MGD	Disfunción de las Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Dysfunction)
MGLA	Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Área)
MUC	Mucinas
NEI VFQ-25	National Eye Institute´s Visual Function Questionnaire 25
NIBUT	Tiempo de Ruptura Lagrimal No invasivo (Non-Invasive Tear Film Break-up Time)
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica (Optical Coherence Tomography)
OD	Ojo Derecho
OI	Ojo Izquierdo
OSDI	Ocular Surface Disease Index
ROC	Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic)
SANDE	Symptom Assessment in Dry Eye
SL	Lámpara de Hendidura (Slit Lamp)
SVS	Servicio de Vigilancia de la Salud
TFBUT	Tiempo de Ruptura Lagrimal con fluoresceína (Fluorescein Tear Break-Up Time)
TFOS DEWS II	Taller de Trabajo sobre el Ojo Seco por la Sociedad de Superficie Ocular y Película Lagrimal (Tear Film and Ocular Surface Society's Dry Eye Workshop)
TMH	Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height)
TMH-SL	Altura del Menisco lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp)
TMH-Tc	Altura del Menisco lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope)
USC	Universidade de Santiago de Compostela

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ÍNDICE

1 RESUMEN....14

2 INTRODUCCIÓN....16

2.1 LA UNIDAD FUNCIONAL LAGRIMAL....16
2.2 LA PELÍCULA LAGRIMAL....17
2.2.1 Organización de la película lagrimal....17
2.2.2 Dinámica de la película lagrimal....20
2.2.3 Componentes de la película lagrimal....20
2.3 LA ENFERMEDAD DE OJO SECO....22
2.3.1 Definición de la Enfermedad de Ojo Seco....22
2.3.2 Clasificación de la Enfermedad de Ojo Seco....22
2.3.3 Patogénesis de la Enfermedad de Ojo Seco....24
2.3.4 Epidemiología de la Enfermedad de Ojo Seco....25
2.4 PRUEBAS PARA EL DIAGNÓSTICO Y CATEGORIZACIÓN DEL ESTADO DE LA SUPERFIE OCULAR Y LA ENFERMEDAD DE OJO SECO....27
2.4.1 Criterios diagnósticos de la Enfermedad de Ojo seco propuestos por la TFOS DEWS II....27
2.4.2 Test específicos para el diagnóstico del estado de la superficie ocular y la Enfermedad de Ojo Seco. 29
2.4.3 Test específicos para la diferenciación del Ojo Seco por Deficiencia Acuosa....34
2.4.4 Test específicos para la diferenciación del Ojo Seco Evaporativo....37

3 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS....44

3.1 JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL....44
3.2 OBJETIVO PRINCIPAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE LA TESIS DOCTORAL....44

4 MATERIALES Y MÉTODOS....46

4.1 MATERIAL....46
4.1.1 Sujetos....46
4.1.2 Cuestionarios de Sintomatología Ocular....46
4.1.3 Evaluación de la osmolaridad mediante osmómetro....49
4.1.4 Evaluaciones con lámpara de hendidura....50
4.1.5 Evaluaciones con lámpara de hendidura e interferómetro....53
4.1.6 Evaluaciones mediante plataforma multi diagnóstica....58
4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS....65

5 PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS....68

5.1 ESTUDIO 1 – CATEGORIZACIÓN DEL OJO SECO POR DEFICIENCIA ACUOSA MEDIANTE EL CRITERIO DE CORTE DE LA ALTURA DEL MENISCO LAGRIMAL MEDIDO CON TEARSCOPE....68
5.1.1 Protocolo del estudio....68

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.1.2 Resultados del estudio *71*
5.2 ESTUDIO 2 – VALORES DE CORTE BASADOS EN EL PATRÓN LIPÍDICO INTERFERENCIAL PARA LA EVALUACIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO *75*
5.2.1 Protocolo del estudio *75*
5.2.2 Resultados del estudio *79*
5.3 ESTUDIO 3 – ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LA VARIACIÓN EN EL ESTATUS Y EN LA ESTABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES CON OJO SECO SIN TRATAR *84*
5.3.1 Protocolo del estudio *84*
5.3.2 Resultados del estudio *88*
5.4 ESTUDIO 4 – ESTUDIO A LARGO PLAZO DE LOS CAMBIOS EN SÍNTOMAS Y SIGNOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO EN PACIENTES SIN TRATAR *90*
5.4.1 Protocolo del estudio *90*
5.4.2 Resultados del estudio *94*

6 DISCUSIÓN **99**

6.1 ESTUDIO 1 – CATEGORIZACIÓN DEL OJO SECO POR DEFICIENCIA ACUOSA MEDANTE EL CRITERIO DE CORTE DE LA ALTURA DEL MENISCO LAGRIMAL MEDIDO CON TEARSCOPE *100*
6.2 ESTUDIO 2 – VALORES DE CORTE BASADOS EN EL PATRÓN LIPÍDICO INTERFERENCIAL PARA LA EVALUACIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO *103*
6.3 ESTUDIO 3 – ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LA VARIACIÓN EN EL ESTATUS Y EN LA ESTABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES CON OJO SECO SIN TRATAR *105*
6.4 ESTUDIO 4 – ESTUDIO A LARGO PLAZO DE LOS CAMBIOS EN SÍNTOMAS Y SIGNOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO EN PACIENTES SIN TRATAR *106*

7 CONCLUSIONES **109**

8 BIBLIOGRAFÍA **111**

9 ÍNDICE DE FIGURAS **133**

10 ÍNDICE DE TABLAS **137**

11 ANEXOS **143**

ANEXO I: CUESTIONARIO MCMONNIES 144
ANEXO II: CUESTIONARIO DE SINTOMATOLOGÍA DE MALESTAR OCULAR 147
ANEXO III: CUESTIONARIO DE EVOLUCIÓN DE SINTOMATOLOGÍA DE MALESTAR OCULAR 150
ANEXO IV: E-MAILS CITA ESTUDIO DE OJO SECO 153
ANEXO V: COMITÉ BIOÉTICO 155
ANEXO VI: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO 156
ANEXO VII: AUTORIZACIÓN EDITORIAL Y CONTRIBUCIÓN A LOS TRABAJOS 162
ANEXO VIII: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 1 163
ANEXO IX: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 2 175
ANEXO X: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 3 188
ANEXO XI: AUTORIZACIONES PARA REPRODUCCIÓN DE IMÁGENES DE NO ELABORACIÓN PROPIA 192
ANEXO XII: LISTA DE IMÁGENES DE ELABORACIÓN PROPIA 195

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1 RESUMEN

Actualmente, la Enfermedad de Ojo Seco (DED, por sus siglas en inglés Dry Eye Disease) se está convirtiendo en una condición de gran relevancia y es considerada un problema de salud pública, alcanzando una prevalencia de hasta el 50% en algunas poblaciones. Esta enfermedad impacta negativamente en la calidad de vida de quienes la padecen, así como en su entorno, ya que, además de afectar el ámbito personal, puede tener consecuencias sociales y laborales. El aumento de la prevalencia de la DED en los últimos años representa un desafío económico para los pacientes, debido a los costos asociados al tratamiento, y también para los sistemas de salud, que deben hacer frente a la demanda de servicios especializados.

Esta condición afecta la salud de la superficie ocular y se clasifica principalmente en dos grupos: Ojo Seco Evaporativo (EDE, por sus siglas en inglés Evaporative Dry Eye), siendo este el más prevalente, y Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (ADDE, por sus siglas en inglés Aqueous Deficiency Dry Eye). Sin embargo, en ciertos casos se observa un solapamiento de los signos característicos de ambos grupos, lo que ha llevado a la introducción de un tercer grupo denominado Ojo Seco Mixto (MDE, por sus siglas en inglés Mixed Dry Eye). A nivel profesional, tanto investigadores como clínicos, enfrentan el reto de desarrollar técnicas que mejoren su diagnóstico, tratamiento y, por ende, el pronóstico de esta enfermedad. En este contexto, no solo resulta crucial la correcta identificación de los signos y síntomas característicos de la DED, sino también comprender el curso natural de esta enfermedad. Conocer cómo evoluciona la enfermedad a lo largo del tiempo, desde sus etapas iniciales hasta las formas más avanzadas, permite a los profesionales de la salud no solo diagnosticarla de manera más precisa, sino también anticiparse a las complicaciones potenciales que puedan surgir. Este enfoque proporciona una base sólida para seleccionar las intervenciones terapéuticas más adecuadas en función de las necesidades individuales de cada paciente, teniendo en cuenta tanto la gravedad como la forma específica de ojo seco que presenta. De este modo, una comprensión integral de la progresión de la enfermedad no solo contribuye a un manejo más efectivo, sino que también mejora significativamente el pronóstico y la calidad de vida de quienes la padecen. Por lo tanto, el objetivo principal de la presente tesis ha sido la búsqueda de criterios de corte diferenciadores entre los subgrupos para mejorar la clasificación de los pacientes, junto con el estudio del curso natural de la enfermedad en aquellos pacientes que no han recibido tratamiento.

Para alcanzar este objetivo, se han realizado un total de cuatro estudios, todos ellos con muestras de pacientes con un diagnóstico preclínico o inicial de DED, junto con pacientes sanos. En el Estudio 1 y el Estudio 2, se buscó establecer criterios de corte diagnóstico para diferenciar entre los subtipos de DED. En el Estudio 1, el criterio de corte se basó en la medición del volumen lagrimal, mientras que en el Estudio 2 se centró en la evaluación de la capa lipídica de la lágrima. Por otro lado, en los Estudios 3 y 4 se buscó identificar los cambios en pacientes

USC DE COMPOSTELA

que no recibieron tratamiento para esta enfermedad. El Estudio 3 se centró en observar la progresión del estado de la enfermedad, mientras que el Estudio 4 evaluó las variaciones en los síntomas y signos de estos pacientes después de 4, 6 y 8 años.

En conclusión, los estudios de la presente tesis doctoral abordaron dos campos principales. En primer lugar, se establecieron criterios específicos para diferenciar entre los subtipos principales de la DED y subtipos de gravedad, en función de la altura del menisco lagrimal (TMH, por sus siglas en inglés Tear Meniscus Height) y de la evaluación del patrón lipídico interferencial (LLP, por sus siglas en inglés Lipid Layer Pattern). En segundo lugar, el seguimiento a largo plazo del curso natural de la enfermedad mostró estabilidad en el diagnóstico, con cambios observables en etapas preclínicas y de predisposición. Asimismo, confirmó que, aunque algunos parámetros como la osmolaridad y el Tiempo de Ruptura Lagrimal con fluoresceína (TFBUT, por sus siglas en inglés Fluorescein Tear Break-Up Time) se mantienen estables, la exposición prolongada a un ambiente inestable incrementa los signos de daño en la superficie ocular, además de reducir la percepción de dolor, lo cual sugiere la aparición de hipoalgesia. Estos hallazgos ofrecen tanto criterios diagnósticos clave para los subtipos de DED como una valiosa perspectiva sobre la evolución natural de la enfermedad sin tratamiento, lo que puede ayudar a guiar futuras estrategias clínicas e intervenciones tempranas.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2 INTRODUCCIÓN

El sistema ocular es un modelo complejo debido a los diferentes componentes que lo forman, cada uno desempeñando un papel esencial para asegurar la salud y el funcionamiento adecuado del ojo. Entre estos componentes, la Unidad Funcional Lagrimal (LFU, siglas del inglés para Lacrimal Functional Unit) destaca por su papel crucial en el mantenimiento de la estabilidad y protección de la superficie ocular. Comprender la LFU y sus funciones, así como las relaciones entre todos los elementos que la componen, es fundamental para abordar los problemas y afecciones que pueden darse en ella.

2.1 LA UNIDAD FUNCIONAL LAGRIMAL

La LFU es un sistema físico que integra la superficie ocular y las glándulas lagrimales. La LFU se compone anatómicamente de la glándula lagrimal principal, las glándulas lagrimales accesorias (glándulas de Krause y glándulas de Wolfring), la superficie ocular, las Glándulas de Meibomio (MG, siglas del inglés para Meibomian Glands), las células calciformes conjuntivales, el epitelio corneal, los párpados, el sistema de drenaje lagrimal, el sistema inmunitario glandular-mucoso y la inervación interconectada.[1-4] La inervación de los epitelios de la superficie ocular viene dada por la rama oftálmica del nervio trigémino también conocido como V par craneal, constituyendo el componente aferente del circuito. Por otro lado, la inervación de la glándula lagrimal principal y de las glándulas accesorias es un proceso complejo, controlado principalmente por el sistema nervioso autónomo. Este control involucra fibras parasimpáticas, simpáticas y sensitivas. El nervio facial, conocido como el VII par craneal, y el nervio trigémino, a través de sus ramas maxilar y oftálmica, desempeñan un papel clave en este mecanismo, formando el componente eferente de la inervación. (Figura 1).[4-8] Esta inervación es esencial para la regulación de producción, distribución y drenaje de los componentes principales de la película lagrimal; así como para mantener la sensibilidad y la respuesta protectora del ojo.[4, 6]

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

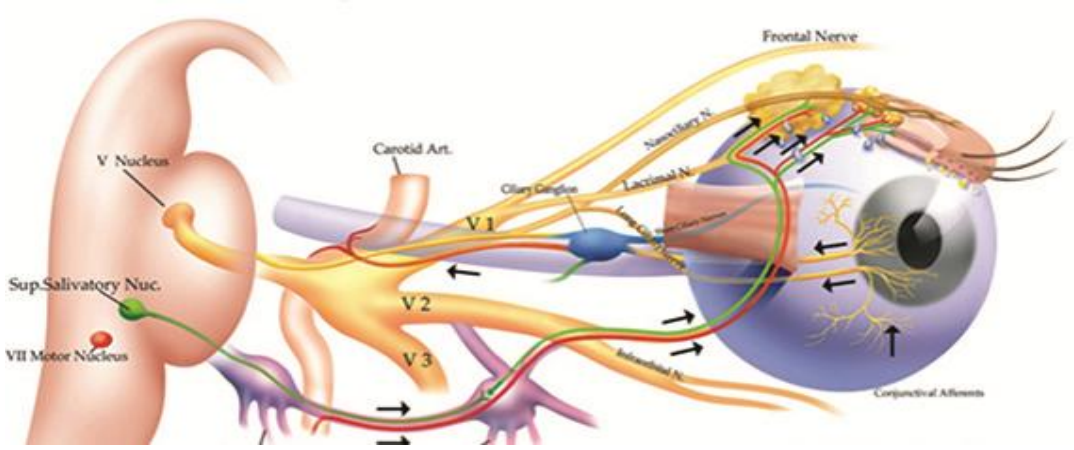


Figura 1 – Representación de LFU integrada y su inervación de Pflugfelder et al.5 Con permiso de la editorial Elsevier.

La LFU es crucial para la salud ocular, ya que, si existen problemas en su funcionamiento debido a alguna disfunción en sus componentes, puede desencadenar en una pérdida de homeostasis de la superficie ocular y a su vez una inestabilidad en la película lagrimal. Cuando esto ocurre se ocasionan afecciones como la Enfermedad del Ojo Seco (DED, siglas del inglés para Dry Eye Disease).[1, 6]

2.2 LA PELÍCULA LAGRIMAL

La película lagrimal es una capa delgada y compleja que sirve de interfaz vital dividiendo el epitelio de la superficie ocular del entorno. Su espesor varía dependiendo de la frecuencia de parpadeo, así como de su calidad y composición, pudiendo verse afectada por factores como el clima, la edad, el uso de pantallas o ciertas enfermedades oculares y/o sistémicas.[1, 6] El Taller de Trabajo sobre el Ojo Seco por la Sociedad de Superficie Ocular y Película Lagrimal (TFOS DEWS, siglas del inglés para Tear Film and Ocular Surface Society's Dry Eye Workshop) describe que una película lagrimal normal presenta un espesor medio de aproximadamente de 2 µm y un volumen de entre 7 y 10 µL.[1, 9, 10] Esta película es crucial para mantener una superficie ocular saludable y una visión clara. Esta estructura cumple una serie de funciones esenciales, que incluye: [1, 10]

- Actuar como lubricante entre la córnea y el párpado, evitando así el posible daño mecánico.
- Proteger a la superficie ocular de elementos externos como polvo o patógenos que puedan dañar la córnea.
- Suministrar nutrientes esenciales a la córnea.
- Proporcionar una defensa frente a microorganismos gracias a sus componentes enzimáticos y proteicos que forman la primera línea de defensa contra infecciones.
- Producir una superficie óptica adecuada que permita una refracción a través de la córnea para una visión clara y nítida

2.2.1 Organización de la película lagrimal

El modelo más comúnmente usado en el entorno clínico durante las últimas décadas para describir la organización y estructura de la película lagrimal es el modelo trilaminar propuesto

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

por Wolf.[10, 11] En este modelo, la lágrima está compuesta por la capa lipídica, siendo esta la capa más externa de la película lagrimal; la capa acuosa y la capa de mucinas, esta última en contacto con el epitelio corneal (Figura 2).[10, 11] Cabe destacar que, actualmente varios autores defienden un modelo bicapa en el que existe una fusión de la capa acuosa y la de mucina constituyendo una capa mucoacuosa.[10, 12] En la figura 3, se representan gráficamente ambos modelos.

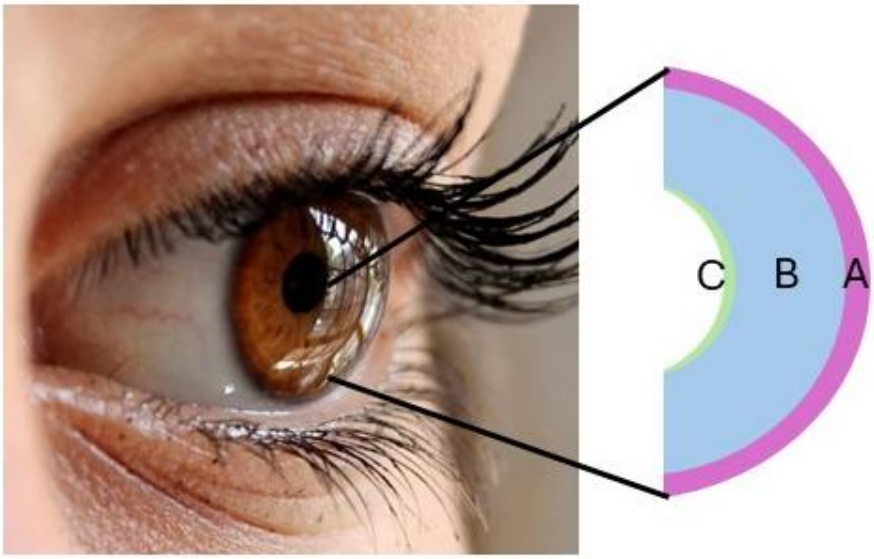


Figura 2- Capas de la película lagrimal: Capa Lipídica (A), Capa Acuosa (B) y Capa Mucínica (C).

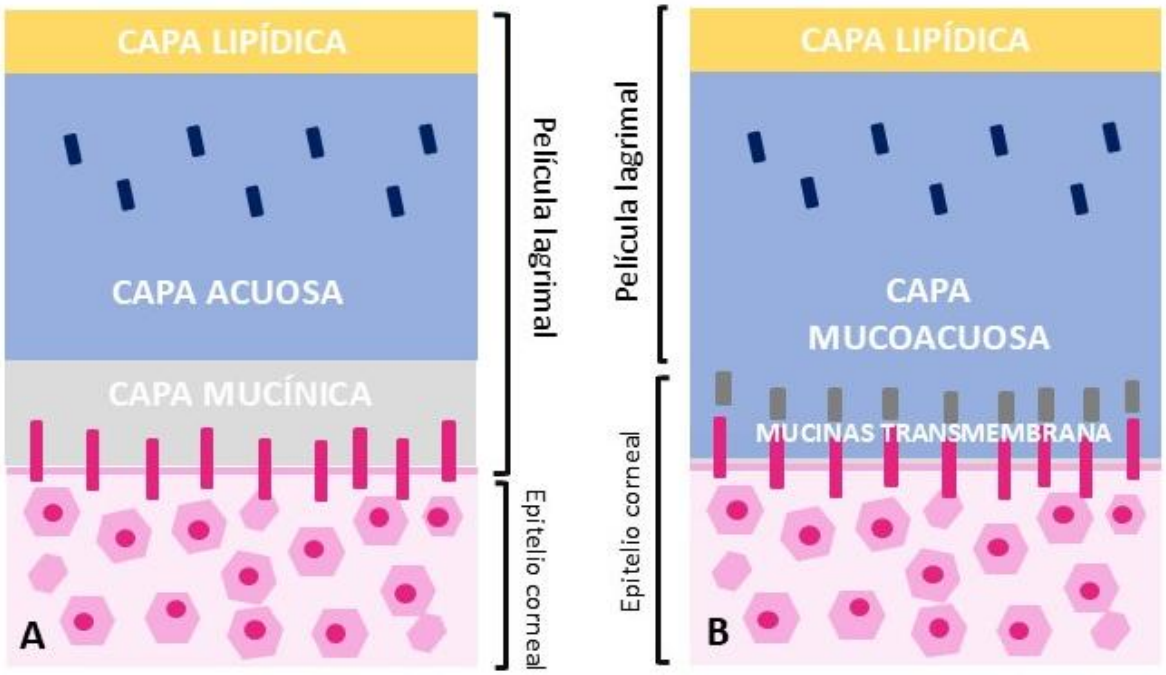


Figura 3- (A) Modelo tradicional de 3 capas. (B) Modelo bicapa.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.2.1.1 Capa lipídica de la película lagrimal

La capa lipídica presenta un espesor variable que depende del ancho de la hendidura palpebral en los diferentes puntos del globo ocular. Este espesor oscila entre 15 y 157 nm, mostrando un espesor medio de 42 nm.[13] Esta capa de lipídica está formada por una compleja mezcla de lípidos, tanto polares como no polares, los cuales se encuentran en el meibum secretado por las MG, las cuales están situadas en tarsos palpebrales. Este meibum se esparce tras cada parpadeo impulsado por las fuerzas de tensión superficial.[14, 15]

La función principal de esta capa es la de estabilizar la película lagrimal en la superficie ocular, al reducir la tensión superficial en la superficie ocular. Al ocurrir esto disminuye significativamente la tasa de evaporación. Además, la capa de lípidos también facilita el deslizamiento suave de los parpados, evitando la fricción y posibles daños en la superficie ocular. Otra función es la de actuar como barrera física contra partículas externas y contaminantes ambientales, evitando que entren en contacto directo con la superficie ocular que puedan causar irritaciones e infecciones.[1, 10, 11, 16] Por lo tanto, cuando esta capa de lípidos se ve comprometida, la película lagrimal pierde su estabilidad, y se producen alteraciones en la superficie ocular.[10, 12, 16, 17]

2.2.1.2 Capa acuosa de la película lagrimal

La capa acuosa es la más gruesa de las capas y presenta un espesor que varía entre 7 y 11 µm, constituyendo la mayor parte del volumen de la película lagrimal. Esta capa está compuesta principalmente por agua, pero también contiene una diversidad de componentes esenciales como proteínas, metabolitos, urea, sales inorgánicas, glucosa, oxígeno, y una variedad de electrolitos tales como magnesio, bicarbonato o calcio. Estos componentes juegan un papel fundamental en la función y la salud de la superficie ocular. Esta capa acuosa es secretada por la glándula lagrimal principal y las glándulas lagrimales accesorias de Krause y Wolfring, que contribuyen de manera más constante a la producción basal de lágrimas.[10, 11, 16]

Entre sus funciones principales destaca la suministración de agua a la película lagrimal para mantener la osmolaridad lagrimal en valores adecuados evitando así que se produzca un aumento de concentración de sales y otros solutos en ella lo cual podría producir daño en la superficie ocular. También actúa como principal medio de transporte para oxígeno y nutrientes al tejido corneal avascular subyacente, crucial para mantener la transparencia corneal. Por último, esta capa acuosa también presenta la funcionalidad de eliminar los restos epiteliales, toxinas y cuerpos extraños, lo cual ayuda a mantener la superficie ocular limpia y libre de residuos.[10, 11, 16]

2.2.1.3 Capa mucínica de la película lagrimal

La capa mucínica presenta un espesor que varía entre 0,02 y 0,05 µm, siendo una capa considerablemente delgada. Está formada principalmente por mucinas, que son glicoproteínas de alto peso molecular, y por mucinas transmembrana que están ancladas al epitelio corneal. Estas mucinas son secretadas principalmente por las células caliciformes denominadas también mucíparas o de Globet, siendo esenciales para la funcionalidad de la película lagrimal. [1, 11, 18]

Su principal función es proporcionar hidrofilia a la superficie epitelial, lo cual es un proceso fundamental para que la capa acuosa pueda distribuirse y adherirse uniformemente sobre la superficie ocular. Sin esta propiedad, la capa acuosa tendría dificultades para humectar adecuadamente el ojo, lo que podría generar zonas secas en la superficie ocular, afectando la comodidad y la visión. A su vez, también contribuye a la nutrición y lubricación de la superficie ocular, así como, al mantenimiento de la homeostasis de la superficie ocular, gracias a su papel

protector contra la desecación y contra agresiones ambientales actuando como una barrera frente a patógenos y creando un entorno favorable para la regeneración del epitelio corneal.[11, 18]

2.2.2 Dinámica de la película lagrimal

La dinámica de la película lagrimal se compone de dos procesos, la distribución y la redistribución lagrimal.[19, 20] El proceso de distribución se inicia por acción de capilaridad, el párpado superior arrastra una capa de lágrima sobre la córnea debido a la capacidad que presenta la lágrima de unirse adherirse a superficies estrechas. Seguidamente, la capa lipídica se desplaza hacia arriba impulsada por las fuerzas de tensión superficial arrastrando con ella capa acuosa. A continuación, y tras producirse el parpadeo, se produce el proceso de la redistribución. Este ocurre debido a que, en los meniscos lagrimales acabados de formar, existe una presión más baja que en resto de la película lagrimal. Cuando esto se produce, la mucina se contamina de lípidos y la película lagrimal se desplaza hacia el fórnix superior e inferior, siendo excretada través del conducto lagrimal para su drenaje y renovación. De forma simultánea, la película lagrimal también se adelgaza por evaporación.[19-21] De este modo se observa que la continua formación y mantenimiento de la película lagrimal se produce mediante el proceso de parpadeo.[10, 11, 16]

Para que este proceso tenga lugar, las lágrimas fluyen desde la región de suministro hacia los puntos lagrimales que se encuentran en los cantos nasales de los párpados, lo que facilita su recambio y eliminación. Se ha estimado que la tasa de recambio lagrimal está en un 16 ± 5% por minuto.[22, 23]

2.2.3 Componentes de la película lagrimal

Además del contenido en agua que constituye un 98,2% de la película lagrimal, las diferentes capas que la conforman de contienen diferentes solutos, que son secretados por las glándulas y células que componen la LFU.[24, 25] A continuación, se describen en detalle los principales solutos que la componen.

2.2.3.1 Lípidos

Se han identificado diferentes tipos de lípidos presentes en la capa lipídica de la película lagrimal y tienen su origen principal en las MG, constituyendo el meibum. Este meibum está compuesto de lípidos no polares y lípidos polares.[26, 27] Los lípidos no polares constituyen el componente principal de los lípidos del meibum lagrimal, siendo el 95%.[28] Son una mezcla de ésteres de cera, ésteres de colesterol, di-ésteres, triglicéridos y colesteroles libres. Su principal función es prevenir de la evaporación. Por otro lado, los lípidos polares, que constituyen el 5% de lípidos del meibum, son: los fosfolípidos, ceramidas, cerebrósidos, ácidos grasos libres, esfingomielina y ácidos grasos (O-Acil)-ω-hidroxilados, también denominados OAHFAs.[14] Los lípidos polares son los principales surfactantes de la película lagrimal y constituyen en la formación de una interfase entre la fase acuosa y el exterior, mientras que los lípidos no polares proporcionando estabilidad a la capa lipídica de la lágrima.[10, 14, 28]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.2.3.2 Proteínas y péptidos

Ambos componentes son encontrados principalmente en la capa acuosa de la película lagrimal. Las principales proteínas son: la lactoferrina, la lisozima, la albúmina, la lipocalina y las inmunoglobulinas como la IgA, IgG e IgE; siendo las que aparecen en mayor concentración. Estas son producidas tanto en la glándula lagrimal principal, como células calciformes de la superficie ocular y en los vasos sanguíneos conjuntivales. Entre sus funciones destacan los efectos inmunoreguladores, antiinflamatorios y antimicrobianos.[10, 29]

Los péptidos son liberados a partir de proteínas progenitoras por enzimas específicas y pueden tener funciones diferentes a las de la proteína original. En las lágrimas se encuentran: catelicidina y lacritina. Ambas con un amplio espectro de protección antimicrobiana; y alfa-defensina y beta-defensina-2 y -3, que estimulan liberación de histamina, la quimiotaxis de células inmunes, la proliferación epitelial y la secreción de citocinas.[10, 29-31] Además, también encontramos presentes neuropéptidos, los cuales protegen la superficie ocular de infecciones y promueven la cicatrización de heridas al infiltrar y activar las células inmunes, promoviendo o suprimiendo la inflamación en la superficie ocular; siendo el caso de la sustancia P.[31, 32]

2.2.3.3 Mediadores inflamatorios

Los mediadores inflamatorios que se encuentran generalmente en la capa acuosa de la película lagrimal son citocinas y quimioquinas como las interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10. Los cambios en sus proporciones reflejaran los niveles de daño e inflamación en la superficie ocular.[10, 24, 32-34]

2.2.3.4 Metabolitos y electrolitos

Los metabolitos son moléculas pequeñas presentes en fluidos corporales, producto de la actividad génica del ARNm, de las proteínas y del metabolismo celular. En la película lagrimal se encuentran mayoritariamente en la capa acuosa, aunque pueden estar presentes en menor cantidad en la capa lipídica.[10, 35] Los más prevalentes son: carbohidratos y cetoácidos como la glucosa; ácidos hidroxílicos y vitaminas como la vitamina C; aminoácidos y cetonas de aminoácidos como la urea; y otros metabolitos como la L-carnitina. Todos tienen como funciones la osmorregulación, ser antioxidantes, antiapoptópicos y la regulación del metabolismo energético. [31, 35] Por otro lado, en la capa acuosa están presentes electrolitos como Na+, Cl-, HCO^{3-}, Ca^{2+}, K^{+} o Mg^{2+}; cuya función es determinar la osmolaridad lagrimal.

2.2.3.5 Mucinas

Las mucinas o MUC, son glucoproteínas de alto peso molecular que conforman la capa mucínica de la película lagrimal. Son secretadas por las células caliciformes del epitelio conjuntival, las células acinares de las glándulas lagrimales y de las células corneales.[10, 30] Estas se dividen en mucinas solubles, siendo las principales MUC5AC y MUC7, y, por otro lado, mucinas asociadas a membrana, como MUC1, MUC4, MUC16 y MUC20. Las mucinas estabilizan la capa acuosa al reducir la tensión superficial de la película lagrimal, además de desempeñar funciones de hidratación y lubricación, actuando también como barrera que evita la unión de patógenos.[30, 36]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.3 LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

2.3.1 Definición de la Enfermedad de Ojo Seco

La DED fue definida en 2017 según el TFOS DEWS II, como una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por la pérdida de la homeostasis de la película lagrimal, acompañada de síntomas oculares, donde la inestabilidad e hiperosmolaridad de la película lagrimal, la inflamación y daño de la superficie ocular y las alteraciones neurosensoriales juegan un papel etiológico.[37] A diferencia de las definiciones propuestas anteriormente, esta definición actual enfatiza la naturaleza multifactorial de la enfermedad, subrayando que no puede ser caracterizada por un solo proceso, signo o síntoma.[37, 38] Se reconoce que múltiples factores contribuyen a su desarrollo y progresión. Además, se destaca que la pérdida de la homeostasis en la película lagrimal es considerada como la característica unificadora de la DED, ya que refleja la complejidad y la interacción de diversos mecanismos patológicos subyacentes. Esta nueva perspectiva permite una comprensión más integral de la enfermedad, facilitando enfoques más completos para su diagnóstico y tratamiento.[39-41] Se debe destacar que el concepto de la homeostasis cobra peso en esta definición, el cual hace referencia desde el punto fisiológico, al estado de equilibrio del organismo con respecto a sus diferentes funciones y la composición química de los diferentes fluidos y tejidos.[5, 17, 42]

2.3.2 Clasificación de la Enfermedad de Ojo Seco

La clasificación de la DED debe realizarse teniendo en cuenta la fisiopatología y la etiología de la enfermedad, ya que debido a su naturaleza multifactorial, las manifestaciones de ella en lo pacientes son heterogéneas.[5, 37, 42] Los pacientes pueden manifestar síntomas característicos de la DED, pero a su vez no mostrar signos clínicos detectables, mientras que otros pueden no experimentar síntomas evidentes, pero sí presentar signos clínicos de la enfermedad e incluso una mezcla de ambas situaciones. Esta variabilidad en su presentación llevó al TFOS DEWS II a realizar una clasificación actualizada, creando nuevos grupos que recogieran todas las casuísticas de la enfermedad.[10, 17, 37, 43, 44] En esta clasificación el TFOS DEWS II recogió los diferentes estados de la DED, desarrollando un algoritmo: [37, 45-47]

- Ausencia de síntomas y signos, correspondiendo con la población sana.
- Presencia de síntomas y ausencia de signos de sequedad ocular, esta combinación puede ser indicativo de dos casuísticas diferentes:
    - Dolor neuropático: habitualmente es producido por una lesión en el sistema neurosensorial que conlleva unos síntomas desproporcionadamente superiores a los signos.
    - DED en estado Preclínico: los signos suelen ser intermitentes, siendo esencial la evaluación continua y el control de estos síntomas mediante la educación y prevención. En el caso de que manifestaran algún signo compatible se les reclasificará como pacientes con DED.
- Presencia de signos y ausencia de síntomas de sequedad ocular, esta combinación puede ser indicativo de dos casuísticas diferentes:
    - Condición neurotrófica: se produce por un proceso patológico subyacente que lleva a una insensibilidad o escasa sensibilidad corneal.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Predisposición a DED: se producen alteraciones en la superficie ocular en ausencia de síntomas. En estos pacientes se llevará a cabo un manejo preventivo de la enfermedad para evitar su aparición.

- Presencia de signos y síntomas de sequedad ocular, siendo esta combinación indicativa de un paciente con DED.

En la Figura 4, se describe esta clasificación propuesta por el TFOS DEWS II de una forma esquemática.

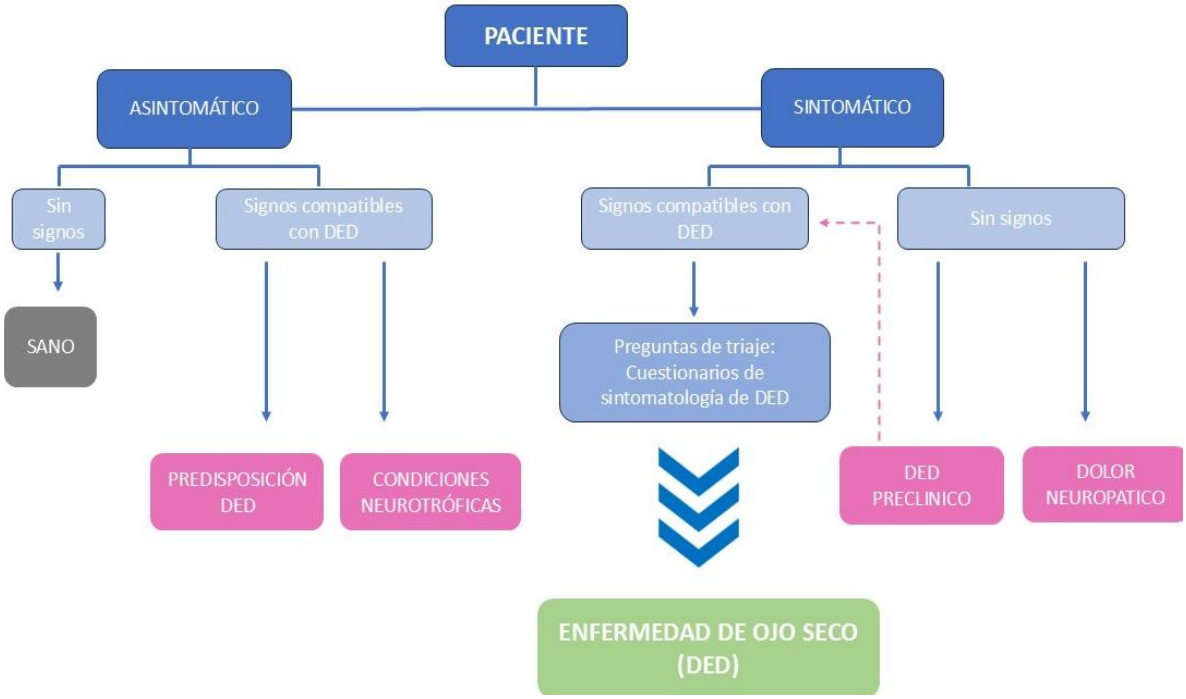


Figura 4- Esquema de los diferentes estados de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease).

Por otro lado, y tras la identificación de un paciente con DED (presencia positiva tanto de signos como de síntomas específicos de la enfermedad), el TFOS DEWS II determinó que estas condiciones pueden ser clasificado en 3 grupos en función de su etiología o tipo: [37, 44, 46, 47]

- Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (ADDE siglas del inglés para Aqueous Deficience Dry Eye): produciéndose en condiciones que afectan a la funcionalidad de la glándula lagrimal, con la consecuente disminución del volumen lagrimal. Esta condición está altamente relacionada con enfermedades autoinmunes, especialmente con el Síndrome de Sjögren o la artritis reumatoide.[48, 49]
- Ojo Seco Evaporativo (EDE, siglas del inglés para Evaporative Dry Eye): produciéndose en condiciones en las se encuentran alterados los y/o la superficie ocular, llevando a una excesiva evaporación lagrimal. Esta condición suele está altamente relacionada con otras alteraciones como la Disfunción de las Glándulas de Meibomio (MGD, siglas del inglés para Meibomian Gland Dysfunction).[50]
- Ojo Seco Mixto (MDE, siglas del inglés para Aqueous Deficience Dry Eye): se produce cuando se solapan los signos característicos de ADDE y de EDE.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Cuando se produce esta casuística, aunque no se ha determinado si sucede primero ADDE o EDE, los autores coinciden en que independientemente del tipo primero de DED con el que se de la enfermedad, este acaba generando al otro tipo debido al "Círculo Vicioso de la DED". [5, 42]

2.3.3 Patogénesis de la Enfermedad de Ojo Seco

El TFOS DEWS consideró en su primer informe a la hiperosmolaridad y la inestabilidad de la película lagrimal como únicos desencadenantes de la DED.[51] Sin embargo, el TFOS DEWS II en su informe sobre la fisiopatología de la DED complementó y amplió este concepto, ofreciendo una perspectiva más integral. Proponiendo la existencia de una cadena de eventos, que pueden conducir a esta inestabilidad lagrimal iniciada por diferentes factores, tanto extrínsecos como intrínsecos. Estos factores pueden amplificar o iniciar la entrada en una vía final común de hiperosmolaridad e inflamación que crea un círculo vicioso, perpetuando su estado patológico.[5, 42]

El denominado "Círculo Vicioso de la DED" (Figura 5) se inicia cuando la córnea es expuesta a esta hiperosmolaridad, se estimula una cascada de eventos en las células epiteliales activando las vías de señalización $NFKB^+$ y $MAPK^+$, que inician la producción de moléculas proinflamatorias (IL-1 y IL-6) denominadas citocinas, quinasas (MAP), factor de necrosis tumoral (TNFα) y proteasas MMP-9.[5, 42, 52-54] La interacción entre estas moléculas activa células de la superficie ocular que se convierten en una fuente adicional de mediadores inflamatorios (células T activadas). Estos últimos sumados a la hiperosmolaridad presente, producen una disminución de la expresión de mucinas en la glicocálix del epitelio (concretamente la MUC5AC), una apoptosis de células epiteliales y una pérdida de células calciformes.[5, 53-55] Esta alteración compromete la superficie ocular y conduce a una ruptura precoz de la película lagrimal. Esta ruptura amplifica o inicia la hiperosmolaridad, completando el ciclo vicioso de la DED y perpetuando la enfermedad.[5, 54-56]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

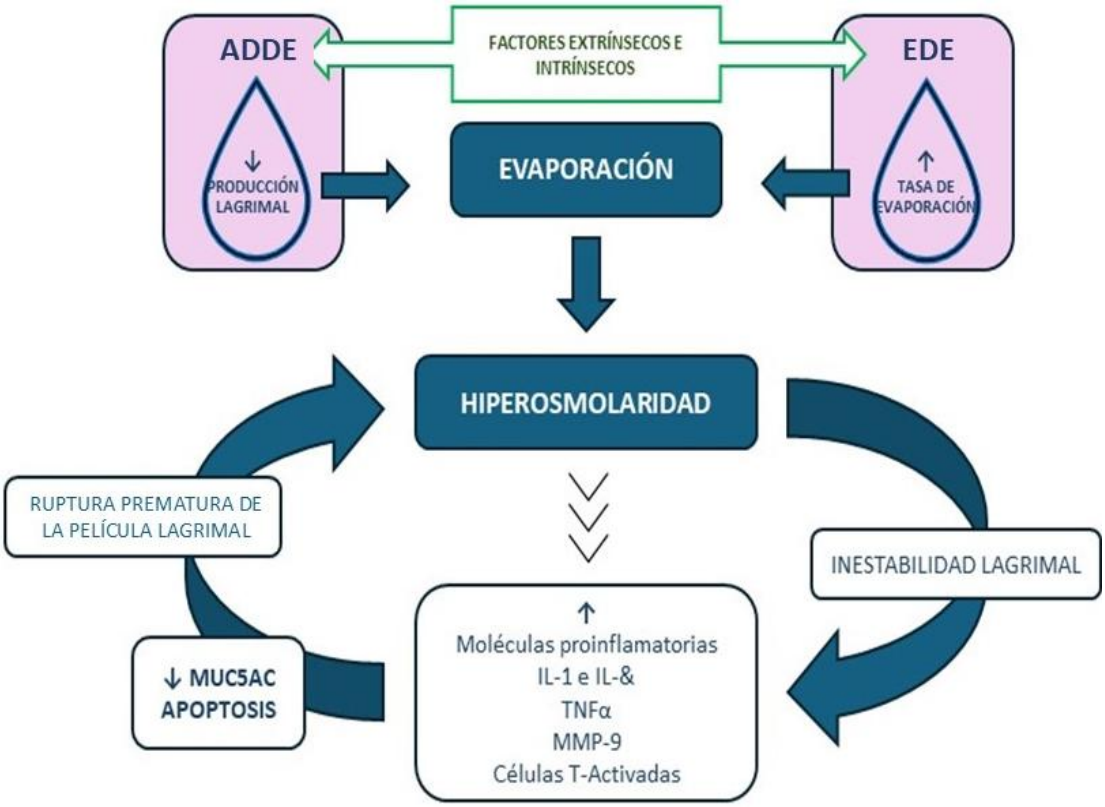


Figura 5- Esquema breve del "Ciclo vicioso" de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). ADDE: Ojo seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye).

A su vez, el desarrollo del concepto de "Ciclo vicioso" permitió definir y ampliar la definición en los tipos de DED, asumiendo que en el ADDE la hiperosmolaridad es resultado de una producción de la lágrima insuficiente, y el en EDE esta hiperosmolaridad resulta de una excesiva evaporación de la película lagrimal.[42, 57] Observándose que en cualquier forma de DED e independiente de su factor iniciador, siempre se produce una inestabilidad lagrimal. Como consecuencia, un DED iniciado por una deficiencia de la película lagrimal se convertía en un ADDE o un EDE durante su curso natural. Es decir que la diferencia entre ADDE y EDE deben tenerse como base iniciadora, pero con la progresión cualquier DED puede tener adicionalmente características evaporativas, esto puede explicarse debido a que sin evaporación no puede producirse esta hiperosmolaridad lagrimal.[5, 54, 58]

2.3.4 Epidemiología de la Enfermedad de Ojo Seco

2.3.4.1 Prevalencia de la Enfermedad de Ojo Seco

Se estima que la prevalencia global de la DED se encuentra entorno al 11,59%.[59] Sin embargo, esta puede ser muy heterogénea dependiendo de su forma de estudio. Por ejemplo, estudios que tienen en cuenta sus síntomas con o sin signos determinan una prevalencia que oscila entre el 5 y el 50% en función de la población estudiada.[57] Por otro lado, esta heterogeneidad también está presente si tenemos en cuenta las principales características demográficas básicas de la población, donde diferentes estudios han demostrado que las

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mujeres y los adultos mayores de 40 años presentan una mayor prevalencia global de la DED, pudiendo la alcanzar el 75% la combinación de ambas características.[57, 59-61]

El TFOS DEWS II describe diferentes estudios que determinan la prevalencia de la enfermedad en base a localización geográfica y otros componentes. Teniendo en cuenta una sintomatología compatible con DED se alcanza una prevalencia de 52,4% en China, 30,3% en Singapur, 30,3% en Corea del Sur, 21,6% en EE. UU, 18,4% en España, 39,2% en Francia y 18,3 3% en Irán.[62-65] Mientras en Reino Unido se encontraron valores de prevalencia del 20,8% en una muestra de estudio compuesta íntegramente por mujeres.[61] Por otro lado, teniendo en cuenta diferentes signos característicos de la enfermedad, se encontraron prevalencias en la Región Asiática de entorno al 37% cuando se presentaba un Tiempo de Ruptura Lagrimal (TBUT, siglas del inglés para Tear Break-Up Time) inferior a 10 segundos, un rango del 27,2% a 37% con un test de Schirmer inferior o igual a 5 mm y un rango de 6 a 77% cuando toma una tinción corneal superior o igual a grado 1.[63, 65-69] En Europa se observa una prevalencia de 15.6% y un 44,9% con un TFBUT inferior o igual a los 10 y 5 segundos respectivamente, un 37% con valores de Schirmer inferiores o iguales a 5 mm y un 7% cuando se presenta una tinción corneal superior o de igual grado.[57, 61, 63-65] Por último, también se describen las prevalencias en la población en diferentes localizaciones geográficas, cuando se presenta una sintomatología compatible con DED junto con al menos un signo característico de la enfermedad, donde en China se presenta una prevalencia del 30.1%, en España del 11,0%, en Francia del 10,7% y en Reino Unido del 9,6%.[57, 61, 63-65]

2.3.4.2 Incidencia de la Enfermedad del Ojo Seco

La incidencia describe dentro de la distribución de la DED, la frecuencia de nuevos casos que aparecen durante un periodo de tiempo concreto. A pesar de la gran importancia de este indicador estadístico, solo un número limitado de estudios lo han investigado. El TFOS DEWS II describe que en un periodo de 5 años en una población caucásica de edades comprendidas entre 48 y 91 años un 13,3% de los individuos han desarrollado DED sintomática y en un periodo de 10 años un 21,6%.[57, 70] A su vez en una población íntegramente femenina un 4,4% presentó sensación de cuerpo extraño con picor y quemazón durante al menos 3 meses dentro de un periodo de 2 años.[57, 61] Actualmente el estudio más reciente disponible estima que en un periodo de 5 años la incidencia se situó en un 3,5% para una población mayor de 18 años y de un 7,8% de 68 años o mayor .[70]

2.3.4.3 Curso natural de la Enfermedad de Ojo Seco

Pese a la alta prevalencia de la DED en la población mundial, y del mismo modo que ocurre con la incidencia, el estudio del curso natural de la enfermedad es muy limitado en la actualidad.[71] Sin embargo, se han propuesto diferentes hipótesis sobre su progresión, las cuales confluyen en un modelo teórico de 3 fases: 1) Inicio de la enfermedad, 2) Compensación refleja, y 3) Pérdida de la respuesta compensatoria. Esto sugiere que la enfermedad puede empeorar sin que se intervenga, debido a que alcanza un puto de estancamiento, y que una vez establecido un ADDE durante su curso natural, puede mostrar signos clínicos característicos de EDE y viceversa.[57, 72]

Asimismo, el limitado número de estudios que se han llevado a cabo para poder dar información clara sobre esta progresión, han establecido ciertos hallazgos. Por un lado, basándose en la percepción de los pacientes sobre sus síntomas de sequedad ocular, visuales y el impacto social de la enfermedad a lo largo del tiempo, la duración media de la DED de 10,5 años en hombres y de 14,5 años en mujeres.[70] Por otro lado, sin tener como referencia la

USC DE COMPOSTELA

severidad de la DED, se ha encontrado una disminución en los síntomas con el paso del tiempo, donde incluso es el 37% de los pacientes sintomáticos con un diagnóstico de DED no reportaban síntomas tras 2 años. Sin embargo, estos estudios presentan la limitación de que, aunque se piensa que es el comportamiento natural de la enfermedad, se desconoce con certeza si estas personas han seguido, aunque fuera puntualmente algún tratamiento. Este hecho ha llevado a la manifestación por parte de clínicos e investigadores, de la necesidad de realizar estudios a largo plazo que describan tanto el curso natural de síntomas y signos como el estado de la enfermedad o cambio en su tipo, mejorando así los futuros tratamientos y pronósticos, con el fin de establecer una representación real de la evolución de la DED.[57, 73] Es determinante llevar a cabo más estudios de este tipo, examinando de forma más detallada más parámetros para poder obtener una comprensión completa del curso natural de la DED y así poder diseñar unas guías y estrategias de manejo y tratamiento.

2.3.4.4 Impacto socioeconómico de la Enfermedad de Ojo Seco

En la actualidad, la DED es el principal motivo de consulta por el que los pacientes acuden en busca de atención primaria en la práctica clínica diaria. Los síntomas asociados a esta enfermedad pueden desencadenar problemas tanto físicos como psicológicos, llegando a impedir la realización de actividades de la vida cotidiana afectando también a la vida social de quienes la padecen.[74-76] Además de esto, y teniendo en cuenta la cronicidad de la enfermedad, la DED genera una significativa carga económica en la salud pública mundial.[57, 70]

El gasto económico que la DED supone tanto para los pacientes como para los estados, ha sido objeto de estudio en numerosas investigaciones desde la publicación del primer TFOS DEWS.[57, 70, 77-79] Este gasto económico se contabiliza tanto directa como indirectamente. Directamente engloba los costes tanto de la prevención, como los tratamientos y las pruebas o visitas médicas; e indirectamente el gasto relacionado con la pérdida de productividad y en el impacto en la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad. Sin embargo, englobar estos gastos supone un reto debido a las diferencias entre países en cuanto a calidad médica y/o sistemas sanitarios, así como la renta per cápita en cada uno de ellos. En Asia el gasto anual individual se encuentra en un rango entre 465,54 ± 303,08 y 530 ± 384 dólares, situándose el coste anual estimado para estos estados asiáticos en 0,15 millones de dólares.[80-82] En Europa el coste anual estimado para los estados varía desde los 0,27 hasta los 1,10 millones de dólares.[78] En Estados Unidos el gasto medio anual que sufrirá cada paciente alcanza los 375 dólares y para los estados alcanza los 3,84 billones de dólares.[77, 78, 83] En poblaciones similares como es Canadá el coste medio anual individual alcanza unos 766 dólares.[79] Estas cifras muestran el impacto económico de la DED, manifestando la importancia de una prevención, diagnóstico temprano y manejo adecuado.

2.4 PRUEBAS PARA EL DIAGNÓSTICO Y CATEGORIZACIÓN DEL ESTADO DE LA SUPERFIE OCULAR Y LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

2.4.1 Criterios diagnósticos de la Enfermedad de Ojo seco propuestos por la TFOS DEWS II

La evaluación del estado de la superficie ocular y de su película lagrimal se puede realizar a través de diversas pruebas. Estas permiten identificar con precisión tanto cambios en la homeostasis como alteraciones que pueden desencadenar el desarrollo de la DED. Dada la complejidad de esta patología y su manifestación en diferentes formas, el informe sobre

USC DE COMPOSTELA

Metodología y Diagnóstico del TFOS DEWS II propuso un algoritmo diagnóstico para la DED, con el objetivo de simplificar su abordaje. Este algoritmo facilita no solo el diagnóstico, sino también la clasificación de la DED en sus distintos subtipos y la evaluación de su severidad. (Figura 6).[17, 37]

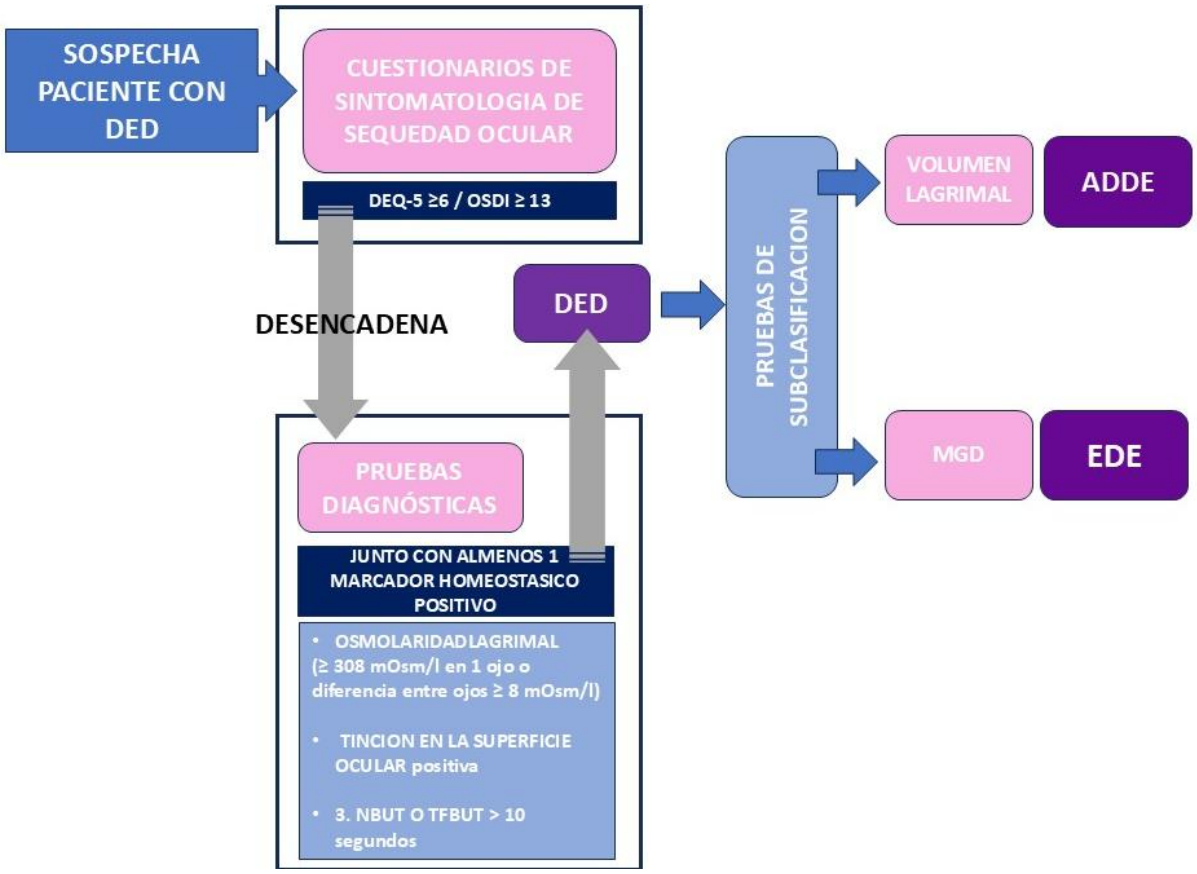


Figura 6- Esquema simplificado del algoritmo propuesto por el TFOS DEWS II. DED: Dry Eye Disease. DEQ-5: Dry Eye Questionnaire-5. OSDI: Ocular Surface Index. MGD: Meibomian Gland Disease. NBUT: Non-invasive Break Up time. TFBUT: Tear Fluorescein Break-Up time. ADDE: Aqueous Deficience Dry Eye. EDE: Evaporative Dry Eye.

Para establecer un diagnóstico de DED, el informe del TFOS DEWS II recomienda que se presente una combinación de síntomas positivos, junto con al menos uno de los marcadores homeostáticos (signos). Esto garantiza un enfoque que tiene en cuenta tanto lo que siente el paciente como los hallazgos clínicos objetivos.[17] La estrategia propuesta por el TFOS DEWS II, parte del principio de realizar una evaluación clínica estructurada en pacientes con sospecha de DED:

- Síntomas: el primer paso es administrar un cuestionario de cuantificación de la sintomatología relacionada con la sequedad ocular mediante cuestionarios estandarizados. Aunque existen gran número de cuestionarios previamente validados, los dos principales recomendados son el cuestionario OSDI (siglas del inglés Ocular Surface Disease Index) y el cuestionario DEQ (siglas del inglés Dry Eye Questionnaire). Estos cuestionarios ayudan a identificar si el paciente presenta síntomas característicos de la enfermedad, como irritación ocular, sensación de cuerpo extraño, fotofobia o fluctuaciones visuales, lo cual es crucial para una detección temprana de la DED.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Signos: una vez identificados los síntomas, el algoritmo sugiere la realización de pruebas diagnósticas específicas para evaluar los marcadores homeostáticos que indican daño en la superficie ocular o disfunción de la película lagrimal. Aunque existen numerosas pruebas para evaluar estos marcadores, la definición actual recomienda tres características principales que deben ser evaluadas a nivel de signos diagnósticos:
    1. Medición de la osmolaridad lagrimal: la osmolaridad elevada es un marcador clave en la definición de la DED, produciendo un desequilibrio en la película lagrimal, que puede contribuir a la sequedad ocular y a daños en la superficie ocular.
    2. Evaluación de la estabilidad lagrimal: la inestabilidad de la película lagrimal es una de las características principales de la DED. Un método común para evaluarla es la medición del tiempo de ruptura de la película lagrimal tras un parpadeo.
    3. Evaluación del daño en la superficie ocular: la DED también se caracteriza por el daño en la superficie ocular. El uso de colorantes vitales es una de las pruebas recomendadas para visualizar el daño celular.

Por otro lado, este algoritmo establece una serie de pruebas específicas para identificar los subtipos de la DED y su severidad.[37]

- Para el subtipo ADDE, se recomienda evaluar el volumen lagrimal, ya que esta es inversamente proporcional a la severidad y el estado del componente acuoso de la estructura lagrimal.
- Para el subtipo EDE, se recomienda evaluar principalmente el estado del borde libre palpebral, las MG y la calidad de la secreción lipídica del sistema, ya que tienen una influencia directa en la retención y evaporación lagrimal. Además, existe una relación directa entre el área de pérdida y la severidad de la DED.

2.4.2 Test específicos para el diagnóstico del estado de la superficie ocular y la Enfermedad de Ojo Seco

Aunque ya se ha mencionado el algoritmo de diagnóstico utilizado por el TFOS DEWS II, a continuación, se presentarán más pruebas divididas según los principios de este algoritmo. Esto es especialmente relevante, ya que uno de los objetivos de esta tesis es mejorar los criterios diagnósticos, optimizando la precisión en la identificación y clasificación de los subtipos de la DED.

2.4.2.1 Cuestionarios para cuantificar la sintomatología de la Enfermedad de Ojo Seco

Cuantificar los síntomas que produce la DED en los pacientes, asiste y complementa a la evaluación de los signos en la detección de esta enfermedad. No obstante, no siempre existe una relación lineal entre ellos. Así mismo esta cuantificación es esencial para supervisar como avanza la enfermedad y también conocer cómo responde a los tratamientos.[17] Por este motivo, el TFOS DEWS en su primera edición establece la recomendación de administrar cuestionarios de sintomatología de DED, validados y estandarizados, a cada paciente al inicio del examen ocular.[17, 37] En la actualidad existe una gran cantidad de cuestionarios disponibles, siendo los siguientes los más empleados:

- Cuestionario de McMonnies

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

El cuestionario de McMonnies consta de 14 preguntas que se centran en los factores de riesgo de la DED. Las preguntas incluyen información demográfica, síntomas de DED, tratamientos actuales y previos para la DED, síntomas secundarios a condiciones ambientales, enfermedades sistémicas como el síndrome de Sjögren, la artritis o la enfermedad de tiroides, y la sequedad de tejidos y de mucosas.[84, 85] Una puntuación superior a 14,5 se describe como sintomatología positiva de DED.

- Ocular Surface Disease Index (OSDI)

El OSDI se trata del cuestionario más empleado tanto en investigación como en la práctica clínica.[74] Este cuestionario consta de 12 ítems que cuantifican la frecuencia de los síntomas oculares durante la última semana y grada la severidad de la DED. Las preguntas que lo conforman hacen referencia a trastornos visuales, como visión borrosa o deficiente; a la función visual, como problemas para leer, conducir de noche, trabajar con ordenadores o ver la televisión; y a desencadenantes ambientales, como viento, ambientes secos, o estar en contacto con aires acondicionados.[86] Una puntuación superior a 13 puntos se describe como sintomatología positiva de DED.

- Dry Eye Questionnaire (DEQ) y Dry Eye Questionnaire-5 (DEQ-5)

El cuestionario DEQ consta de 21 preguntas con una escala para categorizar la prevalencia, frecuencia e intensidad de los síntomas de la DED; como disconfort ocular, sensibilidad a la luz, sequedad, alteraciones visuales, dolor, irritación, quemazón, ardor, picor, o sensación de cuerpo extraño.[49] Además, consta también de preguntas específicas sobre cuestiones demográficas como edad y sexo, padecimiento de enfermedades sistémicas y/o alergias, toma de medicamentos y el diagnóstico previo de DED, así como si se estuvo o está tratamiento.[49] Sin embargo, debido a la gran cantidad de preguntas con ítems diferentes a las que se somete al paciente, que a menudo puede conducir a confusión e incluso responder erróneamente, surge la necesidad de su simplificación.[17] Esto lleva a la creación del cuestionario DEQ-5 (siglas del inglés Dry Eye Questionnaire-5) que consta de 5 ítems en relación con alteraciones visuales, que incluyen la frecuencia de cambios visuales, como de notorios son los síntomas por las mañanas y por la noche, así como cuanta es la molestia de la fluctuación de la visión. Una puntación superior a 5 puntos se describe como sintomatología positiva de DED.[87,88]

- Impact of Dry Eye on Everyday Living (IDEEL)

El cuestionario IDDEL (siglas del inglés Impact of Dry Eye on Everyday Living) está formado por 2 ítems en relación con los trastornos visuales e incluyen el grado en el que afectan a la persona la visión borrosa, la sensibilidad a la luz, los deslumbramientos y/o el viento. En este cuestionario, la obtención de una puntuación superior a 40 puntos se describe como sintomatología positiva de DED.[89]

- Symptom Assessment in Dry Eye (SANDE)

El cuestionario SANDE (siglas del inglés Symptom Assessment in Dry Eye) está formado únicamente por dos preguntas sobre el grado promedio y el grado máximo de molestia ocular que se experimentó durante las últimas 24 horas, así como la frecuencia e intensidad de estas molestias, en lugar de establecer un diagnóstico de sintomatología. Por ello no existe una puntuación de corte.[90]

USC
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

- National Eye Institute´s Visual Function Questionnaire (NEI VFQ-25)

El cuestionario NEI VFQ-25 consta de 7 ítems que abordan la visión general, visión lejana y cercana, visión periférica, visión durante la conducción, visión del color y dolor ocular. Del mismo modo que el cuestionario SANDE, no está diseñado para establecer un diagnóstico de sintomatología positiva de la DED, sino para evaluar el impacto de las condiciones oculares en la calidad de vida relacionada con la visión.[91]

2.4.2.2 Tiempo de ruptura lagrimal

En la práctica clínica el tiempo de ruptura lagrimal es la prueba más empleada para la evaluación de la estabilidad de la película lagrimal.[92, 93] Su relevancia para la evaluación del estado lagrimal radica en que no solo es uno de los indicadores es diagnósticos de DED recomendados por la TFOS DEWS II, sino también por la Asia Dry Eye Society en su actualización de 2017.[94] Este parámetro es definido como el intervalo de tiempo que transcurre entre un parpadeo completo y la aparición de la primera ruptura de la película lagrimal. Esta evaluación de la estabilidad de la película lagrimal ha sido descrita por el TFOS DEWS II como uno de los criterios diagnósticos de anomalías en la película lagrimal y de la DED, en su informe se detalla diferentes técnicas para su evaluación, invasivas y no invasivas.

- Tiempo de ruptura lagrimal invasiva con fluoresceína

Técnica invasiva conocida por sus siglas en ingles TFBUT.[17, 95-99] En esta se instila fluoresceína sódica para aumentar la visibilidad de la película lagrimal. Esta fluoresceína puede ser instilada en diferentes concentraciones y volúmenes, así como mediante diferentes métodos, a través de una micropipeta o de tiras impregnadas, siendo esta última la más empleada.[97-100] Debido a la variabilidad que presenta esta técnica, en el TFOS DEWS II se propuso una estandarización de su metodología. Se estableció el uso de tiras de fluoresceína sódica de 1 mm, que debían ser hidratadas con solución salina, así como una serie de instrucciones de parpadeo específicas tras su aplicación (realizar 3 parpadeos con naturalidad y luego dejar de parpadear hasta recibir instrucciones o que no sea capaz de aguantar debido a las molestias), mientras se emplea iluminación azul cobalto durante toda su realización.[17, 95] Es importante señalar que esta técnica puede presentar un poder diagnóstico variable o poco preciso ante pacientes con un DED leve, sin embargo, y pese a esta limitación, esta técnica sigue siendo empleada por numerosos clínicos en la evaluación del tiempo de ruptura lagrimal. A nivel clínico, se ha descrito como valor de referencia para un posible diagnóstico compatible con DED un TFBUT inferior a 10 segundos.[41, 50, 97, 98, 101, 102]

- Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo

Técnica no invasiva conocida por sus siglas en inglés NIBUT (Non-Invasive Tear Film Break-up Time).[17, 103, 104] Se desarrolló para evitar las posibles variaciones que puede causar la fluoresceína: temperatura, humedad y circulación del aire en la película lagrimal. El NIBUT puede ser evaluado empleando diferentes técnicas: mediante la observación del patrón especular de una rejilla iluminada sobre la película lagrimal; mediante la observación de la distorsión de los discos de plácido sobre la película lagrimal; o mediante diferentes sistemas de topografía corneal y/o plataformas multi-diagnósticas disponibles en el mercado cuyos softwares incluyen la detección de la ruptura de la película lagrimal sobre la superficie corneal.[103, 105, 106] A nivel clínico, se ha descrito como valor de referencia para un posible diagnóstico compatible con DED un NIBUT inferior a 10 segundos.[103, 105-107]

USC DE SANTIAGO

- Intervalo máximo entre parpadeos

El Intervalo Máximo entre Parpadeos (MBI siglas del inglés para Maximum Blink Interval) proporciona información sobre la estabilidad de la película lagrimal. Diferentes estudios han hipotetizado sobre la utilidad de la medida del MBI en cuanto a la evaluación de e la DED y la relación de este parámetro con otras características clínicas de la enfermedad. Se ha demostrado que su evaluación es útil para diferenciar entre pacientes sanos y pacientes que padecen DED. [97, 108-110] En 2018 Inomata et al.[111] determinaron que el MBI es útil para la detección de la DED, tomando como valor de corte de la enfermedad los valores inferiores a 12,4 segundos.

2.4.2.3 Osmolaridad lagrimal

La hiperosmolaridad se ha definido como en principal desencadenante de la pérdida de homeostasis de la superficie ocular, conduciendo a una cascada de inflamación que promueve la DED.[5, 37, 42] Además, la medida de la osmolaridad lagrimal ha sido reportada en diferentes estudios como el único test que por sí sólo puede proporcionarnos una posible compatibilidad con el diagnóstico de DED.[112] Igualmente, esta osmolaridad puede mostrar la correlación con la severidad de esta enfermedad, donde por lo general esta aumenta a medida que empeora la DED. Los valores de osmolaridad medios descritos para sujetos normales se han postulado en 302,2 ± 8,3 mOsm/l, para aquellos sujetos con DED de leve a moderada en 315,0 ± 11,4 mOsm/l y para sujetos con DED severa de 336,4 ± 22,3 mOsm/l.[17, 113] El umbral de diagnóstico de la DED se ha establecido el valor de corte de 308 mOsm/l, y/o cuando existe una diferencia entre ojos mayor o igual a 8 mOsm/l.[17, 113]

Para la medida de la osmolaridad lagrimal existen múltiples técnicas que están basadas en diferentes principios físicos y propiedades de los líquidos, siendo las más comunes:[112]

- Osmometría de conductividad o de impedancia eléctrica: esta técnica se basa en la medida de la conductividad eléctrica de la lágrima, ya que la lágrima cambia en respuesta a variaciones en la concentración de solutos, es sabido que si esta está más concentrada aumenta su capacidad de conducción eléctrica.[114]
- Osmometría de punto de congelación: esta técnica se basa en el principio de congelación, donde una solución tarda más o menos tiempo en alcanzar este estado dependiendo de su concentración osmolar. Para ello, a partir de una muestra de lágrima se mide su temperatura de congelación comparándose con la temperatura de congelación de una muestra de referencia conocida.[115]
- Osmometría de presión de vapor: técnica que se basa en el principio de que la presión de vapor se encuentra inversamente relacionada con la concentración osmolar de la solución. Para ello, se mide la presión de vapor de una solución de lágrima comparándose con una solución de referencia conocida.[116]
- Osmometría por ósmosis inversa: técnica que emplea membranas semipermeables para medir la presión necesaria para detener el flujo de agua a través de la membrana, desde una muestra de lágrima hacia una solución de concentración conocida.[112]

De todas ellas, la técnica más empleada en la actualidad, y en la que se basan los diferentes dispositivos de nueva generación, es la osmometría de conductividad, también denominada osmometría por impedancia eléctrica. Existen diferentes dispositivos en el mercado que emplean esta técnica, siendo algunos de ellos el Tearlab (TearLab Corp., San Diego, California,

USC DE COMPOSTELA

Estados Unidos), el I-Pen (i-Medpharma, Saint-Laurent, Canadá), el Mettler Toledo Osmometer (Mettler Toledo, Columbus, Ohio, Canadá), o el Impedance Analyzer (Solartron Keysight, Santa Rosa, California, Estados Unidos) [40, 41, 99, 117]

2.4.2.4 Daño en la superficie ocular

El daño en la superficie ocular puede ser observado a nivel clínico mediante su tinción con diferentes tipos de tintes vitales. La presencia de tinción, tanto en la córnea como en la conjuntiva, ha sido definida como marcador de la gravedad de la DED, considerando la aparición de tinciones en ambas estructuras como un signo característico de la DED severa.[17, 37]

Los tintes más descritos y empleados son: el rosa de bengala, el verde lisamina y la fluoresceína sódica.[118] El rosa de bengala tiñe las células muertas o degeneras junto con las células epiteliales de la superficie ocular que se encuentran desprotegidas de la mucina o la glicocálix. Aunque este no es el más empleado debido a que tras su instilación produce escozor al paciente y por consiguiente lagrimeo reflejo. Numerosos estudios han demostrado que este tinte reduce la capacidad de supervivencia y la funcionalidad de células epiteliales en cultivos de laboratorio, hecho que podría afectar a la salud.[118, 119] Por otro lado, el verde de lisamina únicamente tiñe las células epiteliales que presentan dañada su membrana, es menos tóxico para la superficie ocular, reemplazando en gran medida al rosa de bengala (Figura 7).[120] Con todo, el tinte más extendido es la fluoresceína sódica, tanto en investigación como en la práctica clínica. La fluoresceína tiñe tanto las células epiteliales que presentan algún tipo de daño en su membrana celular como en su integridad estructural.[118, 121, 122]

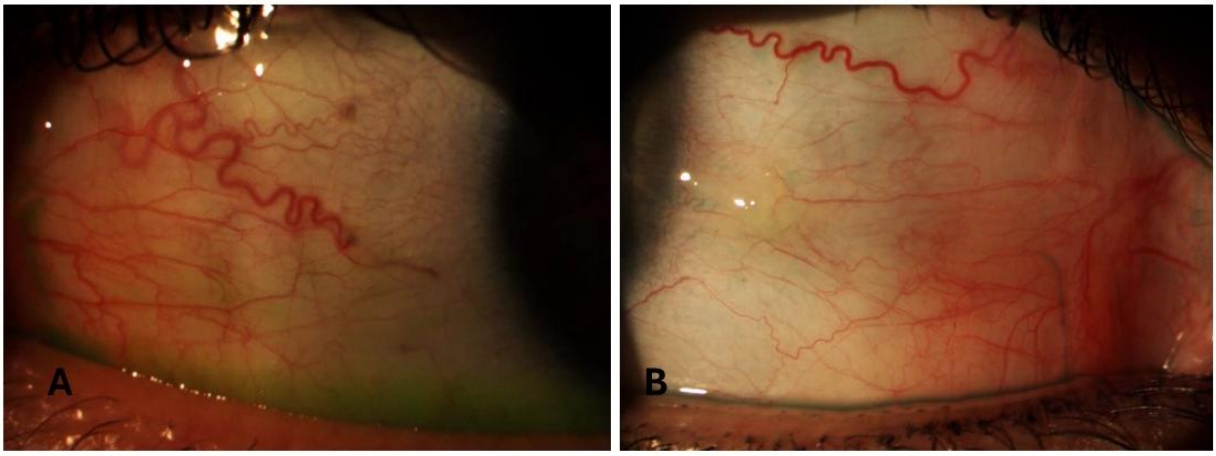


Figura 7- Tinción conjuntival con el tinte vital verde de lisamina zona temporal (A) y zona Nasal (B).

Para la detección de estas tinciones es necesario emplear diferentes técnicas de iluminación u observación. Para la observación de la tinción por rosa de bengala y aunque esta se puede ver empleando una luz blanca estándar, algunos autores recomiendan el uso de un filtro de color verde suave con corte en el espectro de 500 a 550nm.[120, 123] En el caso de la tinción de verde lisamina, se recomienda el uso de un filtro de color rojo con corte en el espectro de luz entre 567 y 634 nm, que aumenta el contraste con la esclerótica. Por otro lado, para observar la tinción de fluoresceína (Figura 8) (cuyo pico de observación se sitúa en la longitud de onda de 515nm) se recomienda el uso de luz azul cobalto, debido a que su longitud de onda se encuentra cerca del pico de excitación del compuesto (495 nm). A su vez, se recomienda el uso de esta luz junto con un filtro de color amarillo que permite pasar bandas de más de 500 nm, acercando así lo máximo posible al de observación del tinte.[118, 121, 122, 124]

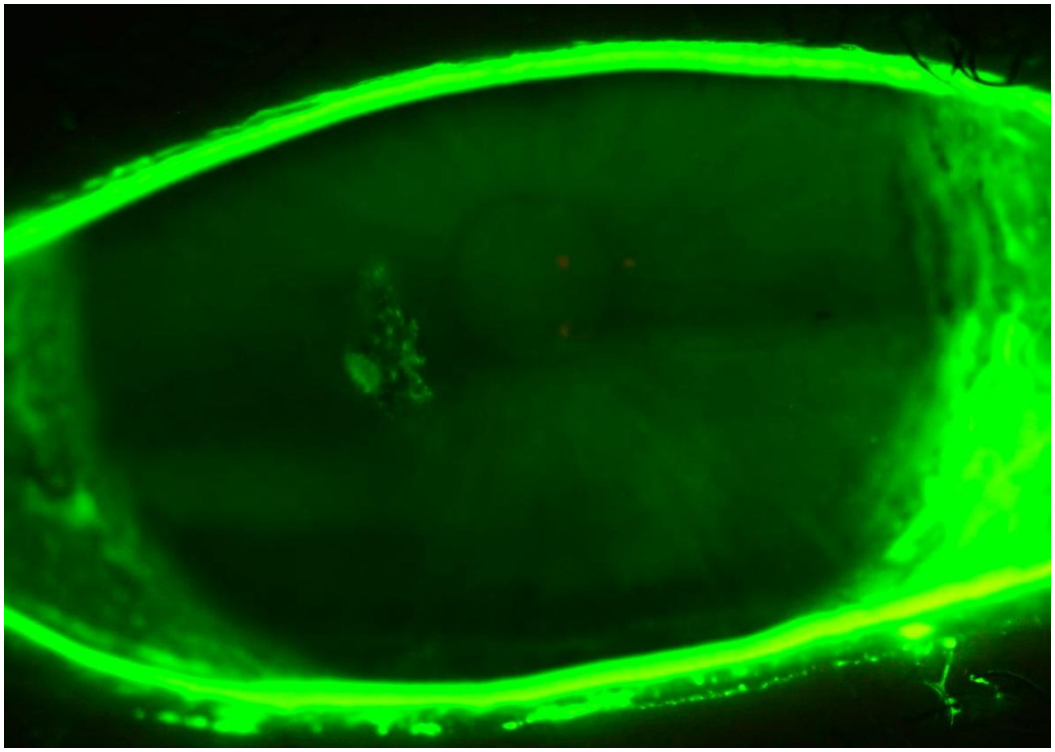


Figura 8- Observación de una tinción corneal empleando el tinte vital de fluoresceína.

Para poder gradar las tinciones observadas y clasificar estas tinciones según la gravedad, existen diferentes escalas, siendo las más empleadas: la escala Oxford, el esquema Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK), el sistema Van Bijsterveld, las directrices proporcionadas por el National Eye Institute/ Industry Workshop, el índice combinado de área y densidad y las pautas del National Eye Institute/Industry Workshop [125-128]. A nivel clínico se describe como tinción positiva para el diagnóstico de DED, la aparición de > 9 puntos con tinción en la conjuntiva tras la instilación de verde de lisamina y de >5 puntos con tinción en la córnea tras a instilación de fluoresceína sódica.[17, 101, 126]

2.4.3 Test específicos para la diferenciación del Ojo Seco por Deficiencia Acuosa

2.4.3.1 Volumen lagrimal

El volumen de la película lagrimal es esencial para mantener la salud de la superficie ocular, ya que la disminución en la producción lagrimal se considera uno de los mecanismos patogénicos que desencadenan la pérdida de la homeostasis en la superficie ocular. Un volumen lagrimal comprometido es la característica diferenciadora principal del ADDE, y por ello, su valoración es fundamental para su diagnóstico diferencial.[10, 17, 37] A continuación, se describirán las diferentes técnicas que se emplean para su evaluación:

- Meniscometría o evaluación del menisco lagrimal: los meniscos lagrimales son descritos como los reservorios lagrimales presentes entre las uniones del borde libre palpebral, superior e inferior, con la conjuntiva bulbar. Esta técnica se basa en la evaluación de dicho menisco lagrimal mediante la medida de la altura de este o de su sección transversal, considerándose el enfoque más directo para el estudio del volumen lagrimal. Para cuantificar la Altura del Menisco Lagrimal (TMH, siglas

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

del inglés para Tear Meniscus Height), se emplean diferentes instrumentos como la Tomografía de Coherencia Óptica (OCT, siglas del inglés para Optical Coherence Tomography), plataformas multi-diagnósticas o la lámpara de hendidura, siendo esta la más empleada.[117, 129, 130] La meniscometría es la técnica más empleada en la práctica clínica debido a su menor invasividad y buena repetibilidad si se adoptan técnicas digitales de medida en lugar de las observacionales.[131, 132] Se estableció como criterio de corte una valor de 0,20 mm para diferenciar aquellos pacientes con ADDE, cuando se emplea tanto visualización como iluminación de la lámpara de hendidura, como se observa en la Figura 9.[17] Sin embargo, no existen estudios que faciliten valores de corte para esta técnica realizada mediante OCT u otras plataformas, los cuales sería útiles en la práctica clínica diaria debido a su fácil manejo, poca invasividad y fácil repetibilidad.

Figura 9 – Meniscometría mediante lámpara de hendidura.

- Test de Schirmer: proporciona una estimación del flujo lagrimal. Se realiza doblando una tira de papel de 5 mm de ancho por 35 mm de largo, por una muesca definida y se inserta en el tercio temporal del párpado inferior, como se muestra en la Figura 10. Además, se ha determinado que mantener al paciente con los ojos cerrados minimiza la variabilidad de los valores obtenidos, aumentando de esta manera su fiabilidad.[37, 133] Los valores de corte propuestos para esta técnica son varios: por un lado, 5 mm a los 5 minutos, y, por otro lado, 10 mm a los 15 minutos, para la diferenciación de aquellos pacientes con ADDE.[17, 134] Diferentes autores defienden que la aplicación de anestesia para realizar esta técnica favorece su objetividad, sin embargo, no existen datos claros tanto para repetibilidad como para sensibilidad y especificidad.[135, 136]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 10 – Colocación de la tira de Schirmer.

- Hilo rojo de fenol: esta técnica proporciona una medida indirecta del volumen lagrimal en reposo, consiste en introducir un hilo en el tercio temporal del párpado durante 15 segundos. Este hilo presenta un colorante sensible al pH y cambia de color amarillo a rojo en contacto con la lágrima, como se muestra en la Figura 11.[17, 89] En la actualidad se encuentra prácticamente extinta debido a su baja sensibilidad y falta de correlación con otras pruebas, como la medida de la altura del menisco lagrimal.[137, 138] Pese a ello, se empleó de forma arbitraria un criterio de corte de 20 mm para diferenciar entre pacientes con ADDE de pacientes con EDE.[17, 139]

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 11 - Colocación del hilo rojo de Fenol.

2.4.4 Test específicos para la diferenciación del Ojo Seco Evaporativo

2.4.4.1 Interferometría

La interferometría se define como una técnica no invasiva que permite la visualización de la capa lipídica de la película lagrimal.[140] Esta se basa en la capacidad de una capa oleosa de mostrar un patrón de franjas interferométricas cuando se asienta sobre una superficie acuosa y a su vez se la expone a una iluminación específica. Las franjas interferométricas se producen debido a los cambios de índice de refracción entre estas dos superficies, debido a que la luz se refleja en dos interfaces con diferente índice de refracción, la interfaz aire-capa lipídica y la interfaz capa lipídica- capa acuosa. Cuando el patrón interferométrico se observa en la película lagrimal se denomina Patrón Lipídico Interferencial (LLP, siglas del inglés para Lipid Layer Pattern) (Figura 12).[141, 142] La capa de lípidos retarda la evaporación de la película lagrimal, por lo que el LLP y su dinámica pueden proporcionar una estimación del grosor de la capa lipídica, lo cual aporta información sobre el estado y la estabilidad lagrimal.[140, 143, 144]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 12- Imagen realizada mediante interferometría de la capa lipídica de un paciente.

Para cuantificar el grosor de la LLP, se han diseñado diferentes interferómetros que permiten su visualización, como son el Tearscope® (Tearscope; Keeler, Windsor, Reino Unido) o el EasyTear® View+ (Costruzione Strumenti Oftalmic; Trento, Italia), siendo estos los más empleados en la clínica diaria. Ambos dispositivos se montan sobre la lámpara de hendidura, de modo que se emplea el sistema de visualización de la lámpara y la iluminación producida por el instrumento.[143, 145, 146] Debido a que los interferómetros sólo permiten la visualización de la LLP a través de la lámpara de hendidura, se han desarrollado escalas de clasificación para estimar el grosor de la capa lipídica, eligiendo el grado o tipo de patrón observado más predominante. A nivel clínico, las escalas más empleadas son la escala Básica de Guillon, con 5 pasos, y la Escala de Características de Color, con 4 pasos. Ambas escalas clasifican el LLP de menor a mayor grosor, donde a menor grosor se asume una capa de lípidos más comprometida.[145, 147, 148] Aunque hasta la fecha no hay criterio de corte aceptado, estudios recientes indican que al usar la escala Básica de Guillon, aquellos pacientes con EOS que presentan unos LLP distribuidos en los pasos 1, 2 y 3.[47]

Por otro lado, también se han desarrollado dispositivos como el Kowa DR-1® (Kowa; Nagoya, Japón) que integran sistema de iluminación y visualización, cuantifica el grosor mediante un algoritmo que transforma los diferentes LLP observados en nm de grosor.[149, 150] Además, también se pueden encontrar en el mercado instrumentos como el LipiView® (TearScience, Morrisville, Carolina del Norte, EE. UU), que realiza la medida automática del grosor del LLP.[151-153] Con este último, se han estimado los valores medios del espesor de las LLP tanto en pacientes sanos (88,51 ± 5,72 nm), pacientes con ADDE (76,50 ± 21,25 nm), pacientes con DGM (52,25 ± 25,50 nm) como en pacientes con MDE (57,33 ± 24,41 nm).[154]

Sin embargo, y pese a la utilidad de esta técnica, hasta la fecha no se han realizado estudios que proporcionen unos valores de corte para el diagnóstico de la DED o la diferenciación entre subgrupos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.4.4.2 Meibografía

La meibografía es la técnica que permite la observación de las MG in vivo mediante técnicas de iluminación específicas, proporcionando información tanto de su estructura como de su morfología.[155, 156] La primera técnica empleada para su observación fue la transiluminación del párpado evertido con luz blanca, descrita por R. Tapie en 1977, sin embargo, y pese a que diferentes clínicos realizaron mejoras de la técnica, esta seguía proporcionando una visualización pobre de las MG y además generaba incomodidad que en los pacientes.[155] Debido a esto, se comenzó a emplear una técnica de no contacto, descrita por primera vez por Arita et al.[157] y conocida como meibografía de no contacto.[155, 158] En esta la observación de las MG se emplea una cámara sensible a la luz infrarroja, la cual capta las MG una vez que son iluminados ambos tarsos con dicha luz infrarroja. Esta técnica se realiza montando el sistema de iluminación descrito sobre una lámpara de hendidura que a su vez está dotada de un sistema de grabación en video. A partir de esta técnica se han desarrollado diferentes dispositivos sensibles a la luz infrarroja, así como plataformas multi-diagnósticas con esta función incorporada, como el OCULUS Keratograph 5M (OCULUS Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania), el Topcon MYAH (TOPCON Corporation, Tokio, Japón) o el Topcon CA-800 (TOPCON Corporation, Tokio, Japón); por otro lado, una serie de dispositivos portátiles como el Dispositivo de Carga Acoplada (802CHACCD; Shenzhen LYD Technology Co. Ltd. Shenzhen, China) desarrollado por Pult et al.[158] (Figura 13).

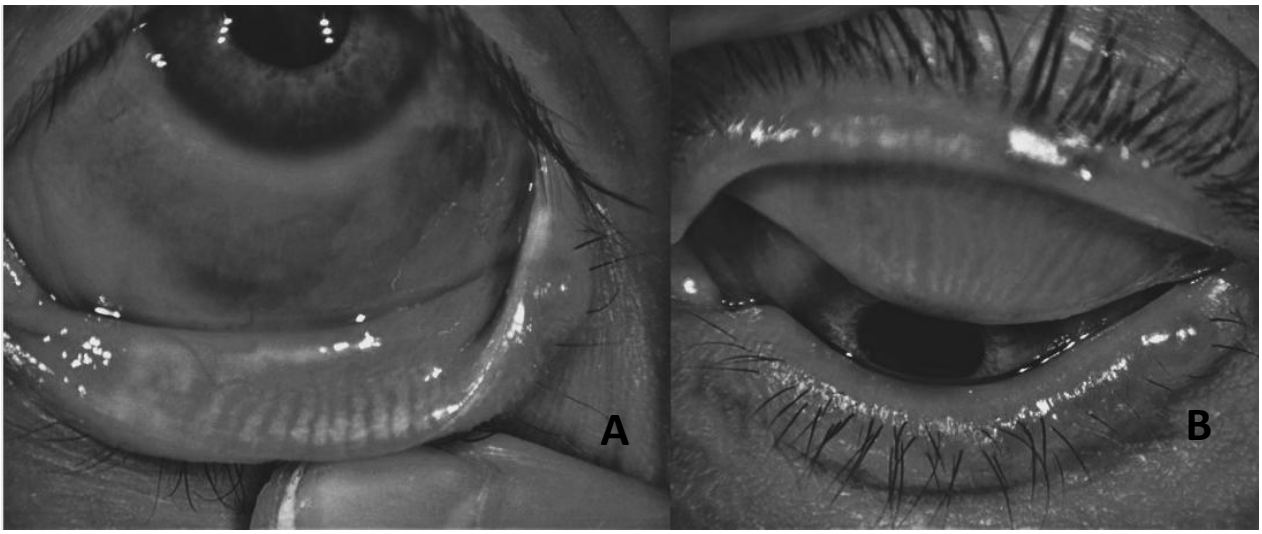


Figura 13 – Imagen mediante meibografía del tarso inferior (A) y del tarso superior (B).

Esta meibografía para poder ser interpretada ha de ser clasificada, en la actualidad existen diferentes escalas de clasificación meibográficas, siendo las propuestas por Arita et al.[159] y Pult et al.[160] las más empleadas.[155, 160, 161] La escala propuesta por de Arita et al.[157] y denominada Meiboscore, cuantifica los cambios en las MG con puntuación de 0 a 3 distribuidos en 4 niveles, de menor a mayor alteración morfológica de las MG respectivamente, en ambos parpados.

Por otro lado, la escala propuesta por Pult et al como se muestra en la Figura 14, denominada Meiboscale cuantifica el área de perdida las MG (MGLA siglas del inglés para Meibomian Gland Loss Area) en función de área total que estas ocupan en los tarsos, con una puntuación de 0 a 4, distribuidos en 5 grados de menor a mayor porcentaje de pérdida respectivamente.[155, 160, 162]

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

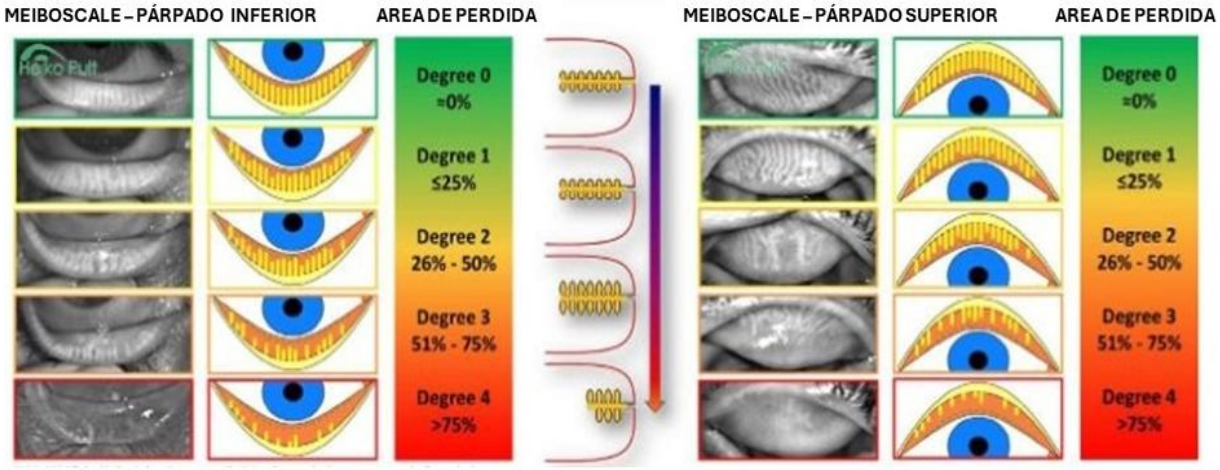


Figura 14 – Meiboscale a partir de meibografía propuesta por Pult et al.155 Con permiso de la editorial Wolkers Kluwer.

2.4.4.3 Evaluación del borde libre palpebral

Para evaluar en profundidad el borde libre palpebral, Arita et al.[159] propusieron una escala de gradación que evalúa diferentes aspectos relacionados con el borde libre palpebral y las MG, con la finalidad de estandarizar su análisis.Esta escala evalúa los siguientes signos: 1 - Vascularización anormal en el borde libre palpebral, 2 - Obstrucción o taponamiento de los orificios de las MG en el borde libre palpebral, 3 – Irregularidades en los márgenes del borde libre palpebral, 4 – Engrosamiento de los márgenes del borde libre palpebral, 5 – Presencia de MG parciales y 6 – Perdida de MG. En la Tabla 1 se muestra esta escala junto con los niveles de puntuación para cada signo.

Signo	Grado
Vascularización anormal	0 = Ausencia o ligera presencia de hiperemia en el borde libre sin telangiectasias atravesado los orificios 1 = Hiperemia en el borde libre sin telangiectasias atravesando los orificios 2 = Hiperemia en el borde libre conjuntival con telangiectasias presentes en menos de la mitad de la totalidad de este. 3 = Hiperemia en el borde libre conjuntival con telangiectasias presentes en más de la mitad de la totalidad de este.
Taponamiento de los orificios de las MG	0 = Ausencia de taponamiento 1 = Taponamiento de menos de 3 orificios 2 = Taponamiento de 3 o más orificios distribuidos en menos de la mitad del borde libre 3 = Taponamiento de 3 o más orificios distribuidos en más de la mita del borde libre
Irregularidad del Borde Libre Palpebral	0 = Ausencia de irregularidades en el borde libre 1 = Menos de 3 irregularidades con muescas ligeras en el borde libre 2 = Más de 3 irregularidades con muescas macadas en el borde libre
Engrosamiento del Borde Libre palpebral	0 = Ausencia de engrosamiento 1 = Engrosamiento con o sin redondeamiento localizado 2 = Engrosamiento con redondeamiento difuso
MG parciales	

	0 = Ausencia de MG parciales 1 = Menos de 3 MG parciales 2 = 3 o más MG parciales o Menos de 3 MG parciales junto con pérdida de la mitad o más de su extensión total 3 = 3 o más MG parciales junto con pérdida de la mitad o más de su extensión total
Pérdida de MG	0 = Ausencia de pérdida de MG 1 = Pérdida de menos de 3 MG 3 = Pérdida de más de 3 MG

Tabla 1 - Escala de gradación propuesta por Arita et al para la evaluación de la MGD. MG: Meibomian Glands, MGD: Meibomian Gland Dysfunction.

Tabla 1 - Escala de gradación propuesta por Arita et al para la evaluación de la MGD. MG: Meibomian Glands, MGD: Meibomian Gland Dysfunction.

Por otro lado, además de la estructura y distribución de las MG, la secreción del meibum es esencial para el posible diagnóstico del EDE, debido a que tanto la cantidad como la calidad de este, así como la capacidad de expresión de los MG, reflejan directamente la funcionalidad de estas. Para cuantificar la calidad del meibum, Bron et al.[163] desarrolla una escala que tiene en cuenta tanto el aspecto del propio meibum como la capacidad de expresión tras aplicar presión sobre las MG. A continuación, en la Tabla 2 se describe cada uno de estos signos con sus grados de clasificación

Signo	Grado
Capacidad de expresión de las MG	0 = Fácilmente expresable 1 = Parcialmente expresable 2 = Incapacidad para expresar meibum
Tipo de secreción expresada por las MG	0 = Meibum totalmente transparente 1 = Meibum de color claro y fluido 2 = Meibum ligeramente turbio de consistencia semisólida 3 = Meibum turbio y espeso de consistencia sólida

Tabla 2- Escala de clasificación de calidad y capacidad de expresión de las MG propuesta por Bron et al. MG: Meibomian Glands.

Tabla 2 – Escala de clasificación de calidad y capacidad de expresión de las MG propuesta por Bron et al. MG: Meibomian Glands.

2.4.4.4 Hiperemia conjuntival

La hiperemia conjuntival se ha descrito como un signo característico de inflamación en la superficie ocular (Figura 15). Pese a que puede darse en numerosas anomalías oculares que cursan con inflamación como: alergias, daños químicos o mecánicos, enfermedades autoinmunes, conjuntivitis u otras infecciones.[164] Aunque la evaluación de este signo clínico ha sido incluida en las guías de metodología del TFOS DEWS II y propuesto como un indicador de la severidad de la DED, el The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction lo indica dentro de su escala con un signo más específico del EDE.[165] Debido a su ubicación anatómica, la hiperemia conjuntival es el único signo observable de alteración del sistema circulatorio de fácil observación permitiendo la detección de cambios patológicos de forma no invasiva.[17]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

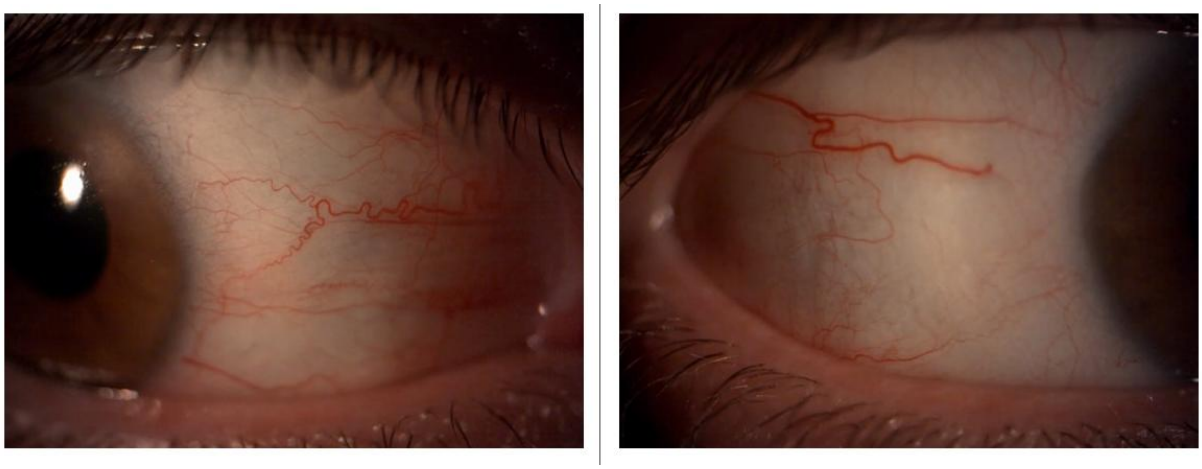


Figura 15 – Imagen de la hiperemia conjuntival observada mediante lámpara de hendidura.

Para la clasificación de la hiperemia conjuntival se han desarrollado numerosas escalas de gradación, siendo la más empleada la escala del Brian Holden Vision Institute (BHVI singlas en inglés para Brian Holden Vision Institute), antes denominada escala de la Cornea and Contact Lens Research Unit (CCLRU siglas del inglés para Cornea and Contact Lens Reseach Unit). Esta escala, la cual se muestra en la Figura 16, se centra en las complicaciones conjuntivales en relación con el enrojecimiento bulbar y el enrojecimiento limbal, clasificándolas en 4 categorías de gravedad desde grado 1 (muy leve) hasta grado 4 (grave).[166, 167] El uso de escalas de gradación presenta ciertas limitaciones debido a la heterogeneidad entre ellas y a su carácter subjetivo.[168, 169] Por ello se han desarrollado nuevos modelos de análisis automatizado de imágenes. Muchos de ellos presentes en diferentes plataformas multi-diagnósticas disponibles en el mercado, aunque estas no pueden emplearse de manera indistinta con el uso de escalas subjetivas.[166, 170-172]

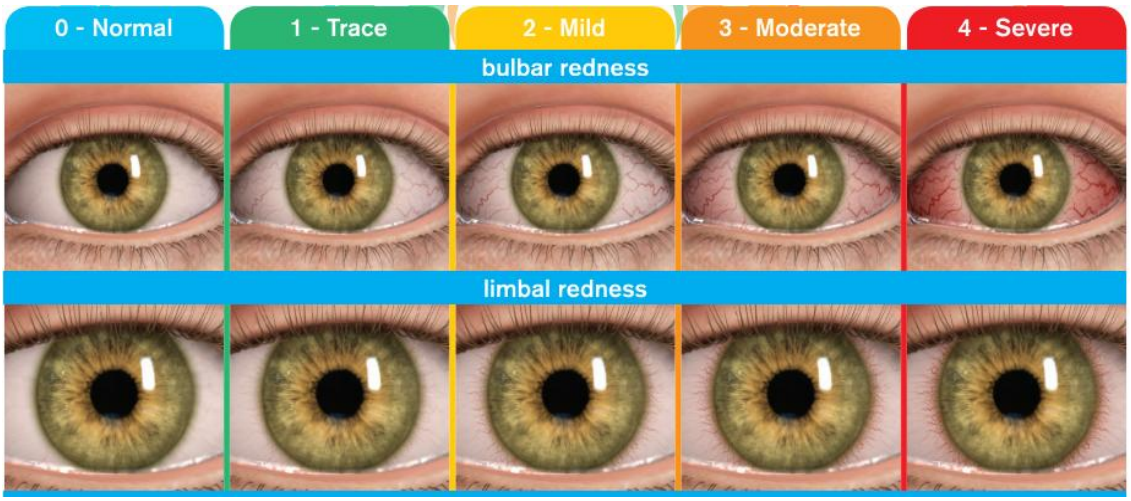


Figura 16 – Escala BHVI de gradación de la hiperemia conjuntival. BHVI: Brian Holden Vision Institute. Con permiso de Brian Holden Vision Institute.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3.1 JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

A pesar de los avances en la comprensión de la DED, los criterios de corte para su diagnóstico continúan siendo objeto de debate actual en la literatura. Aunque sí existen pruebas que se realizan en la práctica clínica diaria con potencial diagnóstico validado, como la medida del volumen lagrimal, el análisis de la capa lipídica y el estado de las GM, no se ha alcanzado un consenso definitivo sobre los puntos de corte óptimos para clasificar con precisión los distintos subtipos de DED. Esto resulta en una falta de estandarización de los criterios diagnósticos, lo cual obstaculiza una identificación clara y segura tanto de la enfermedad como de sus subtipos, dificultando así un diagnóstico eficaz y la correcta asignación de tratamientos.

Por otra parte, la evolución de la DED a lo largo del tiempo y el curso natural de su progresión no están bien documentados. Aunque la DED es una enfermedad crónica de alta prevalencia a nivel global, incluso considerada una pandemia de salud pública, se sabe poco sobre cómo cambian sus síntomas y signos en cada fase de la enfermedad. Según la última definición de la TFOS DEWS II, la DED es una condición multifactorial que abarca factores ambientales y fisiológicos, pero su curso a largo plazo sigue sin estar estudiado adecuadamente. Dado el impacto significativo de la DED en la calidad de vida y en el sistema sanitario, es crucial profundizar en la comprensión de su evolución para poder ofrecer a los pacientes un tratamiento personalizado y pronósticos más precisos.

3.2 OBJETIVO PRINCIPAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE LA TESIS DOCTORAL

El objetivo principal de la presente tesis doctoral fue establecer nuevos criterios diagnósticos y de clasificación para los subtipos de ojo seco, y analizar la evolución de esta condición no tratada a lo largo del tiempo.

Para cumplir con el objetivo principal propuesto, se formularon y desarrollaron los siguientes objetivos específicos, cada uno de los cuales contribuye de manera integral al logro de las metas generales del estudio:

- Objetivo 1: Establecer un nuevo criterio de corte basado en la medida del TMH con el interferómetro Tearscope para diferenciar entre ADDE y EDE, y clasificar la severidad en participantes con ADDE.
- Objetivo 2: Establecer un criterio de corte para discriminar entre los subtipos de DED mediante la evaluación del LLP.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Objetivo 3: Analizar la variación del estado del diagnóstico de DED según los criterios del TFOS DEWS II en participantes no tratados a lo largo de 4, 6 y 8 años desde su diagnóstico.
- Objetivo 4: Analizar los cambios en síntomas y signos diagnósticos según los criterios del TFOS DEWS II en pacientes con DED no tratados tras 4, 6 y 8 años desde su diagnóstico.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

En esta sección se describirán los materiales empleados para la realización de los diferentes protocolos y pruebas realizadas en cada uno de los estudios. Para el uso de estos materiales, se siguieron las normas estandarizadas de cada fabricante en los distintos estudios, así como los estándares recogidos en la literatura usando de base las recomendaciones del TFOS DEWS II del año 2017.[17]

4.1.1 Sujetos

De forma general, la muestra de sujetos voluntarios que participaron en los diferentes estudios de la presente tesis se compuso de sujetos que acudieron al Servicio de Optometría de la USC (Registro Sanitario: C-15-002430, centro sanitario acreditado: C.3.90, con oferta asistencial (U): U.900.50-Optometría y sede del GI-2092 en Optometría) que se localiza en la Facultad de Óptica y Optometría de la Universidade de Santiago de Compostela (USC).

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado y un documento sobre protección de datos previo a su inclusión en los diferentes protocolos de los estudios de la presente tesis (ANEXO VI), donde se explicaba detalladamente las actividades de las que se componía cada protocolo. Las actividades realizadas dentro de este marco han sido aprobadas por el Comité de Ética de la Investigación de Galicia (Santiago – Lugo) con número de registro 2013/360. De igual forma, todos los protocolos de los diferentes estudios que componen la presente tesis estaban adheridos a los principios de la Declaración de Helsinki y fueron aprobados por el Comité de Bioética de la USC con número de registro USC-08/2021. Los datos recogidos tras la realización de las diferentes actividades dentro del Servicio de Optometría estaban amparados por el Reglamento UE 2016/679 y fueron tratados por la USC como "Gestión de datos de usuarios e historias clínicas de exámenes optométricos realizados en el Servicio de Optometría de la Escuela de Óptica y Optometría" con la finalidad de "Gestión de datos de la historia clínica en los exámenes optométricos de los usuarios del Servicio de Optometría para la gestión de la actividad optométrica docente, de investigación, así como el estudio y producción estadística y de gestión".

4.1.2 Cuestionarios de Sintomatología Ocular

La cuantificación de la sintomatología de sequedad ocular se realizó mediante cuestionarios. A continuación, se describen los cuestionarios empelados para la cuantificación la sintomatología de sequedad ocular. Entre todos los mencionados en la literatura, se seleccionaron el cuestionario de McMonnies y el OSDI.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.2.1 Cuestionario McMonnies

Este cuestionario que consta de 14 preguntas se centra en los factores de riesgo de la DED (Anexo I). Estas incluyen información demográfica sobre sexo y edad, síntomas específicos de sequedad ocular, tratamientos previos y actuales para la DED, síntomas secundarios relacionados con estímulos ambientales, condiciones sistémicas y de sequedad de membranas mucosas. Las puntuaciones, que varían de 0 a 45 puntos y reflejan el grado de DED, siendo una puntuación más alta de 14,5 puntos indicativa de su presencia.[84, 85]

Los resultados obtenidos no han sido integrados en la realización de la estadística de ninguno de los estudios. Únicamente ha sido utilizado a modo de screening por el Servicio de Vigilancia de la Salud (SVS) de la USC, el cual tiene un convenio con el Servicio de Optometría de la USC para derivar a aquellos pacientes que presentan una puntuación compatible con DED.

4.1.2.2 Cuestionario Ocular Surface Disease Index

El cuestionario OSDI es descrito como el más utilizado, tanto por clínicos como investigadores, y evalúa los síntomas de la superficie ocular sin consumir mucho tiempo al paciente debido a su forma rápida de cumplimentación. Este cuestionario consta de 12 preguntas formuladas con relación a lo acontecido en la última semana. Las preguntas se dividen en 3 secciones: 1) Frecuencia de la sintomatología de sequedad ocular, 2) Posibles desencadenantes ambientales y 3) Calidad de vida relacionada con la visión.[86, 173] Cada una de las preguntas grada en una escala de 0 a 4 la severidad de la sintomatología, donde 0 representa que nunca ocurre, 1 que ocurre ocasionalmente, 2 que ocurre la mitad del tiempo, 3 que ocurre la mayor parte del tiempo y 4 que ocurre todo el tiempo; a mayores en cada pregunta está presente la opción "no sabe / no contesta". El valor del cuestionario OSDI se calcula sumando las puntuaciones obtenidas en cada pregunta, multiplicándolas por 25 y dividiendo entre el número de preguntas contestadas, obteniéndose una puntuación global que oscila entre 0 y 100 puntos. En función de la puntuación global obtenida, se puede gradar la sintomatología de los pacientes según 4 categorías de severidad: Grado 1 o Normal [0 - 12], Grado 2 o Medio [13 – 22], Grado 3 o Moderado [23 – 32] y Grado 4 o Severo [33 – 100].[86]

Este cuestionario fue distribuido en formato papel entre los años 2012 y 2020, siendo cumplimentado por el paciente en el momento de la revisión y posteriormente los datos obtenidos eran introducidos en una hoja de Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Albuquerque, Nuevo México, Estados Unidos) para su análisis. A partir del año 2020, con la finalidad minimizar la generación de documentos impresos a cumplimentar por el paciente, disminuir el tiempo total de la revisión y también reducir el tiempo en consulta debido a la pandemia mundial a causa del COVID-19, se crearon dos versiones online de este cuestionario OSDI mediante la aplicación Microsoft Forms (Microsoft Corporation, Albuquerque, Nuevo México, Estados Unidos) que generaba automáticamente un documento de Microsoft Excel con las respuestas de los pacientes, permitiendo el posterior análisis. Se generaron dos cuestionarios de aplicación según el paciente:

- "*Cuestionario de sintomatología de malestar ocular",* que se muestra en el Anexo II (Figura 17), para aquellos pacientes que acudían por primera vez a revisión y que constaba de todas las preguntas del cuestionario OSDI, así como un apartado añadido sobre hábitos e historia clínica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 17 - Cabecera del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".

- *"Cuestionario de evolución de sequedad ocular"* , para aquellos pacientes que acudían tras 4, 6 u 8 años desde su primera revisión se creó el que se muestra en el Anexo III (Figura 18), el cual a mayores de las preguntas que contenía el *"Cuestionario de sintomatología de malestar ocular"* se añadió un apartado de cuestiones relacionadas con los cambios en su vida desde la última revisión, siendo estos: el uso de lentes de contacto, un embarazo, un nuevo diagnóstico de enfermedades sistémicas, nuevos tratamientos pautados, haber sufrido accidentes y/o hospitalizaciones, haber sufrido cirugías oculares y/o generales y haber realizado cambios laborales o de hábitos con impacto en el estilo de vida.

Figura 18 - Cabecera del "Cuestionario de Evolución de sequedad ocular".

Para ambos cuestionarios, el paciente accedía a ellos previo envío por parte del Servicio de Optometría de la USC del correspondiente enlace de Microsoft Forms vía e-mail. Estos e-mails se muestran en el Anexo IV (Siendo el enlace el correspondiente para el "*Cuestionario de*

sintomatología de malestar ocular " https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=LEUNj6S3ZEm4EIw5c3RHe3Y0QJmFGUVLrElC4dQrKDZUOVZMNk4wU0VVWlRZV1VMSDhNQUlLQjU2MS4u *y para el "Cuestionario de evolución de sequedad ocular" el siguiente* https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=LEUNj6S3ZEm4EIw5c3RHe4D82m7Ab_NIqb6YJT-zWl1UQksyOTczRkJDNEFLNVVYVjVWSFlFNDhTQyQlQCN0PWcu .

4.1.3 Evaluación de la osmolaridad mediante osmómetro

El osmómetro TearLab fue el dispositivo empleado para la evaluación de la osmolaridad de la película lagrimal. Este dispositivo proporciona el valor de la osmolaridad de la muestra de lagrima mediante impedancia eléctrica, dando su resultado en miliosmoles por litro (mOsm/l) y con un rango de medición que se extiende desde los 275 a los 400 mOsm/l.[174-177] El TearLab está compuesto por tres elementos principales: una base de carga, dos dispositivos que portan las tarjetas de captura de muestra y las tarjetas de captura lagrimal; a mayores, consta de dos tarjetas de verificación electrónicas reutilizables (Figura 19).

Figura 20 – Elementos del dispositivo TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos): Base de carga (A), dispositivo porta tarjetas de captura (B), tarjeta de captura lagrimal y su envase (C), tarjeta de verificación (D).

Figura 19 - Elementos del dispositivo TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos): Base de carga (A), dispositivo porta tarjetas de captura (B), tarjeta de captura lagrimal y su envase (C), tarjeta de verificación (D).

Primeramente, antes de realizar la medida, tal y como indica el fabricante, ha de verificarse la calibración correcta del dispositivo. Para realizar este procedimiento, se coloca la tarjeta de verificación electrónica en el porta-tarjetas hasta que el dispositivo la detecta (aproximadamente 5 segundos) el cual emitirá un sonido y se apagará su luz verde. Seguidamente, el dispositivo porta-tarjetas se posiciona en la base de carga, esta muestra en su pantalla el valor de 335 ± 5 mOsm/l que confirma la calibración. En todos los estudios se realizaban las calibraciones cada día, antes de realizar todas las mediciones. Una vez calibrado, se colocaba al paciente en un sillón con su cabeza apoyada en el reposacabezas, de forma que su barbilla quedase inclinada hacia arriba y sus ojos dirigidos hacia el techo. Para recoger la muestra, el examinador apoya levemente su mano libre en la mejilla del paciente para una mayor estabilidad, pero sin bajar el párpado o tirar de este hacia afuera (Figura 20).

Figura 20 - Colocación del paciente y recogida de la muestra con el instrumento TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos).

Posteriormente, se coloca el porta-tarjetas junto con la correspondiente tarjeta de captura lagrimal, en el tercio temporal del párpado inferior y descendiendo suavemente hasta que la punta de la tarjeta de captura toque el menisco lagrimal. Una vez recogida la cantidad adecuada, el aparato emite un pitido. Posteriormente, se coloca el dispositivo en la base de carga, la cual muestra en su pantalla el valor de la medida. Este procedimiento se realizó en todos los estudios en ambos ojos, primero en el Ojo derecho (OD) e inmediatamente en el Ojo Izquierdo (OI).

4.1.4 Evaluaciones con lámpara de hendidura

En los diferentes protocolos de los estudios de la presente tesis se realizaron exploraciones de la película lagrimal y de la superficie ocular que requerían del uso de la lámpara de hendidura. La lámpara de hendidura empleada en todos los casos fue la Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) con la cámara Topcon DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) acoplada y conectada a un ordenador mediante el software Topcon IMAGEnet i-base (Topcon Corporation, Tokio, Japón) (Figura 21). Para mejorar la calidad de los datos obtenidos y reducir el tiempo total del examen, se empleó la grabación en video de estas exploraciones.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 21 – Lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) y la cámara Topcon DC-4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) acoplada.

4.1.4.1 Evaluación de la altura del menisco lagrimal

En un primer procedimiento, el TMH fue evaluado empleando la propia iluminación de la lámpara de hendidura.[132, 178, 179] Los pacientes fueron instruidos para colocar cómodamente su barbilla en la mentonera del aparato y sus ojos en posición primaria de mirada, mientras se les indicaba que parpadearan con normalidad.[132, 179] La observación del menisco lagrimal central se llevó a cabo empleando la iluminación de la lámpara de hendidura junto con un aumento de 40x. Se utilizó una franja de iluminación de 5 mm de alto y 3 mm de ancho, con una intensidad moderada para prevenir el reflejo de la lágrima (Figura 22). El menisco lagrimal central fue grabado en video y estas grabaciones reproducidas en el software VLC Media Player (VideoLAN Organization, VideoLAN Project).[132] Seguidamente, con este software se capturó el fotograma exacto correspondiendo con el momento inmediatamente posterior al parpadeo, cuando el menisco se encontraba totalmente expandido. Siendo el menisco lagrimal central aquel que está situado a las 6 horas tomado de referencia la pupila.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

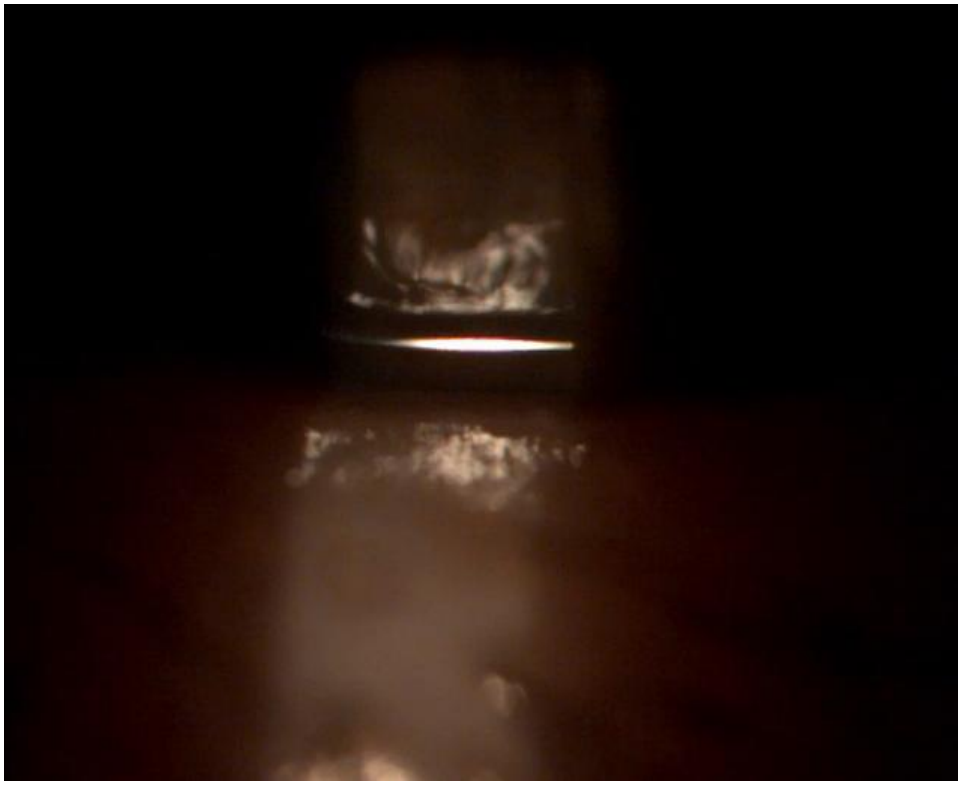


Figura 22 - Visualización del menisco lagrimal central con la iluminación lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón).

Una vez extraídas estas imágenes, la Altura del Menisco lagrimal con Lámpara de Hendidura (TMH-SL, siglas del inglés para Tear Meniscus Height with Slit Lamp) fue obtenida empleando el software ImageJ v1.53t (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EE. UU; http://imagej.nih.gov/ij/).[132, 180] Se tomó como medida del TMH-SL la distancia entre el límite oscuro del borde superior del párpado inferior y el límite superior del menisco lagrimal central. En el software ImageJ se seleccionó la herramienta "Straight tool" marcándose con esta una línea desde este borde del párpado inferior y el límite superior del menisco. A continuación, se seleccionó el comando "Analyse" seguido del comando "Measure" de forma que el programa indicaba el valor de dicha línea en píxeles (Figura 23). El valor proporcionado en píxeles se introdujo en una hoja de Microsoft Excel para su conversión a milímetros.[132]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

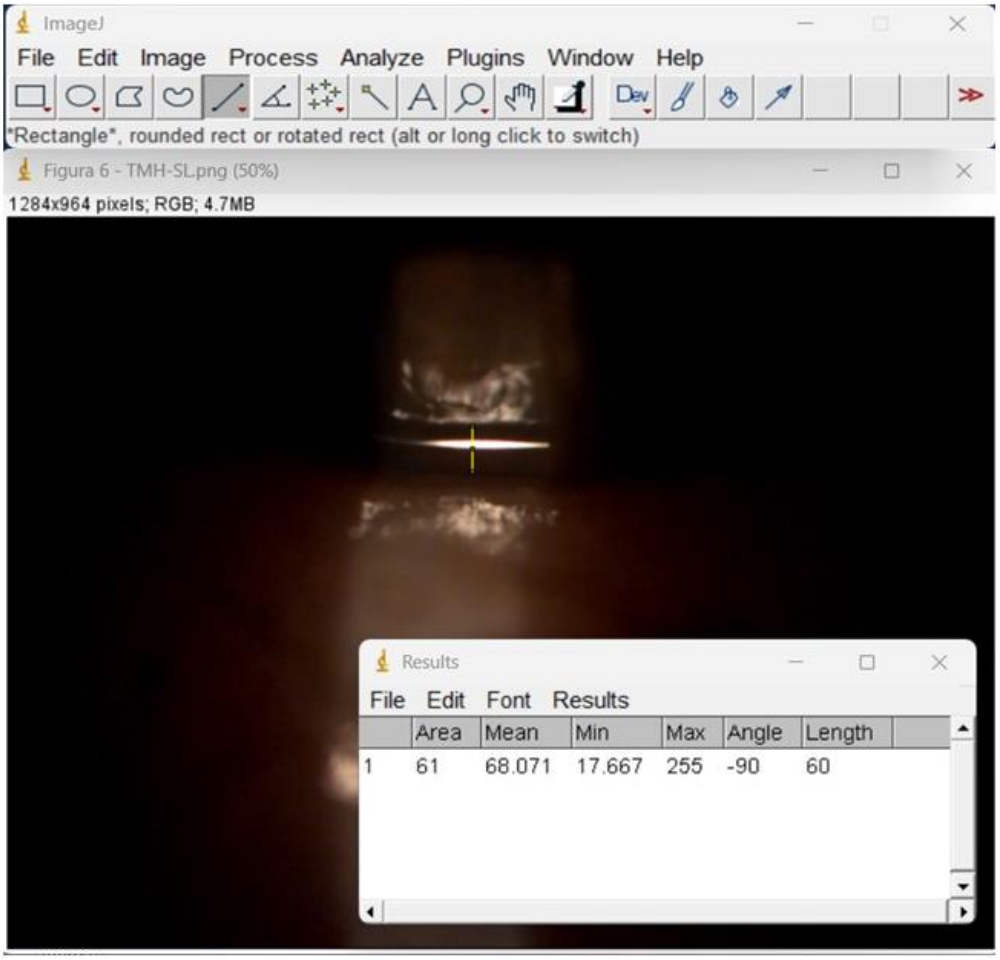


Figura 23 - Proceso de medida del TMH-SL empleando el software ImageJ. TMH-SL: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Slit Lamp).

4.1.5 Evaluaciones con lámpara de hendidura e interferómetro

En los protocolos de los diferentes estudios de la presente tesis, se realizaron exploraciones de la película lagrimal que requerían el uso de la lámpara de hendidura para su visualización y a su vez la iluminación proporcionada por el Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido), instrumento que se encontraba acoplado a esta (Figura 24). De igual forma que en el apartado anterior, la lámpara de hendidura empleada fue la Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) y su cámara Topcon DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) conectada a un ordenador mediante el software Topcon IMAGEnet i-base (Topcon Corporation, Tokio, Japón).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 24 - Dispositivo Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) y lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) con este dispositivo acoplado.

Este sistema de visualización e iluminación combinado se empleó siempre inmediatamente después de la evaluación de la altura del TMH con visualización e iluminación solo con lámpara de hendidura descrito con anterioridad, de forma que se siguió un orden de menor a mayor invasividad.

4.1.5.1 Evaluación de la altura del menisco lagrimal

En un segundo procedimiento, el TMH fue evaluado nuevamente, pero empleando la iluminación del Tearscope, realizándose este inmediatamente después de su evaluación mediante la lámpara de hendidura.[146, 179, 181] Para ello, el Tearscope fue colocado a una distancia constante entre la mentonera y la lámpara de hendidura. Se mantuvo la lámpara de hendidura con un aumento de 40x y empleando la iluminación más brillante proporcionada por el Tearscope. A su vez, los pacientes fueron colocados exactamente igual que en la medida del TMH-SL e instruidos para parpadear con normalidad mientras miraban al centro del aparato, obteniéndose así una correcta visualización de su menisco lagrimal central. El menisco lagrimal central fue grabado en video y estas grabaciones reproducidas en el software VLC. Seguidamente con este software, se seleccionó y extrajo el fotograma exacto correspondiente con el momento inmediatamente posterior al parpadeo cuando el menisco se encontraba totalmente expandido. Siendo el menisco lagrimal central aquel que está situado a las 6 horas tomado de referencia la pupila (Figura 25).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 25 - Visualización del TMH central con la iluminación del Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido). TMH: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height).

Una vez extraídas estas imágenes, la Altura del Menisco lagrimal con Tearscope (TMH-Tc siglas del inglés para Tear Meniscus Height with Tearscope) fue obtenida empleando el software ImageJ v1.53t (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EE. UU; http://imagej.nih.gov/ij/).[132, 180] Se tomó como medida del TMH-Tc la distancia entre el límite oscuro del borde superior del párpado inferior y el límite superior del menisco lagrimal central. Para ello, en el software ImageJ se seleccionó la herramienta "Straignht tool" marcándose con esta una línea desde este borde del párpado inferior y el límite superior del menisco. A continuación, se seleccionó el comando "Analyse" seguido del comando "Measure" de forma que el programa indicaba el valor de dicha línea en píxeles (Figura 26). El valor proporcionado en píxeles se introdujo en una hoja de Microsoft Excel para su conversión a milímetros.[132]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

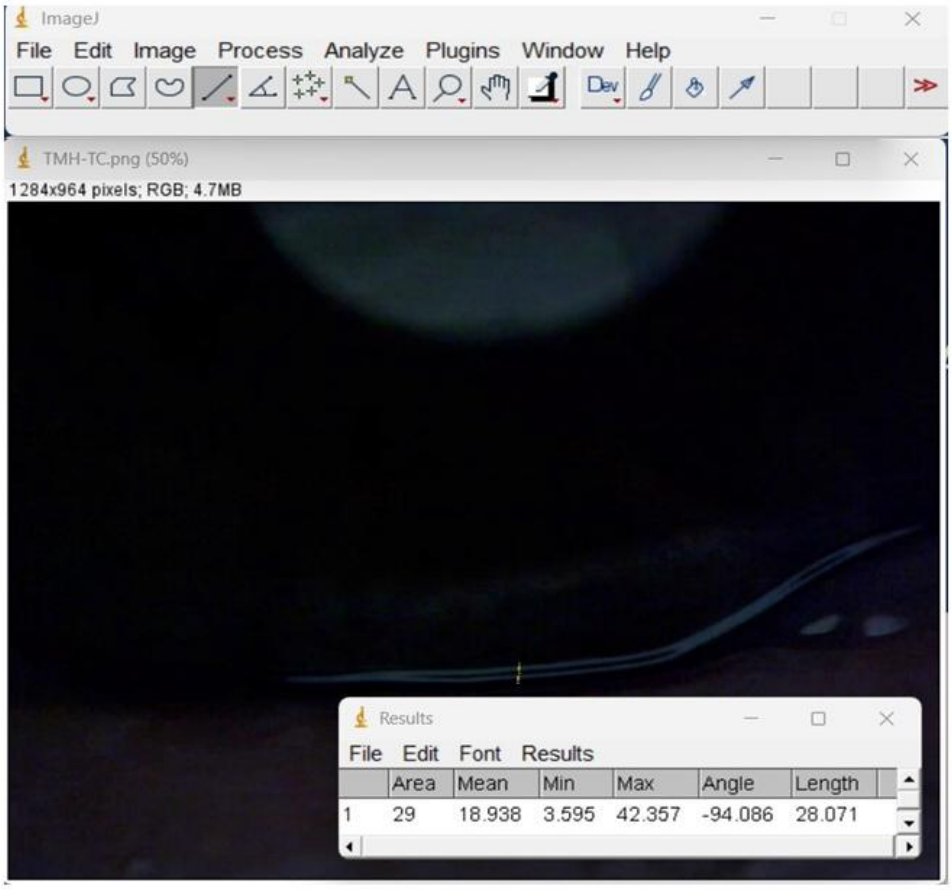


Figura 26 - Proceso de medida del TMH-Tc empleando el software ImageJ. TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height with Tearscope).

4.1.5.2 Evaluación del patrón lipídico interferencial

El LLP fue obtenido al igual el TMH-Tc empleando la iluminación del Tearscope acoplado a la lámpara de hendidura.[143, 145, 146] Para su correcta visualización también fue empleada la luz más brillante proporcionada por el aparato y un aumento de 16x en la lámpara de hendidura. Los pacientes se mantuvieron colocados de la misma forma que en la medida del TMH. Se les instruyó a mantener la mirada dirigida al centro del aparato, mientras se le pidió que parpadearan 3 veces sin apretar los párpados excesivamente, este proceso fue repetido 3 veces.

El LLP fue grabado en video la Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) con la cámara Topcon DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) acoplada y conectada a un ordenador mediante el software Topcon IMAGEnet i-base (Topcon Corporation, Tokio, Japón) Estos fueron videos reproducidos por el software VLC. Seguidamente con este software se seleccionó y se extrajo su imagen en el fotograma exacto en el LLP que se encontraba totalmente expandido, un segundo después del último parpadeo. Estas imágenes extraídas eran guardadas en el ordenador [143] A partir de estas imágenes el LLP fue categorizado siguiendo dos escalas. Primeramente, siguiendo el Esquema Básico de Patrones Lipídicos proporcionado por Guillon (LLP-G siglas del inglés para Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme).[145] Este esquema presenta 5 pasos de menor a mayor grosor: Marmóreo Abierto, Marmóreo Cerrado, Fluido, Amorfo o Coloreado (Figura 27), teniéndose en cuenta también sus formas

intermedias como intercategorías. Se otorgó a cada uno de ellos un valor de grado de 1 a 5 con sus pasos intermedio respectivamente, para su posterior análisis.

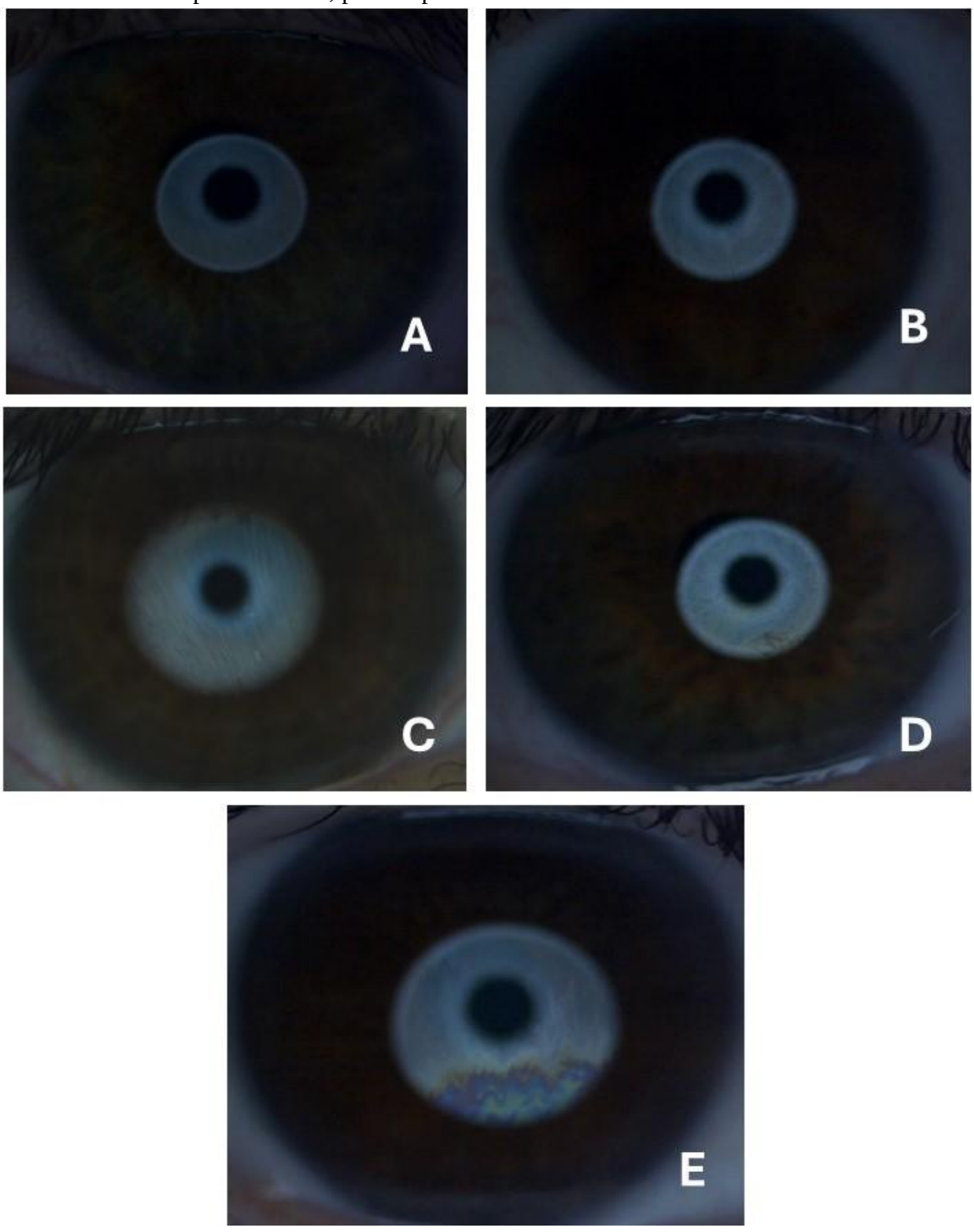


Figura 27 - Esquema básico de los patrones lipídicos interferenciales de Guillon (LLP-G): A: LLP Marmóreo abierto; B: LLP Marmóreo Cerrado; C: LLP Fluido; D: LLP Amorfo; E: LLP Coloreado. LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Seguidamente, las mismas imágenes fueron clasificadas siguiendo el Esquema de Características del Color de los Patrones Lipídicos Interferenciales (LLP-C siglas del inglés para Lipid Layer Patterns following the Colour Scheme).[147] Este esquema presenta 4 pasos de menor a mayor grosor: Gris, Blanco, Amarillo y Marrón o superior (Figura 28), teniéndose también en cuenta sus formas intermedias como intercategorías. De igual forma que en la clasificación de LLP-G, se otorgó a cada una de ellas un valor de grado, en este caso de 1 a 4 con sus pasos intermedios, para su posterior análisis.

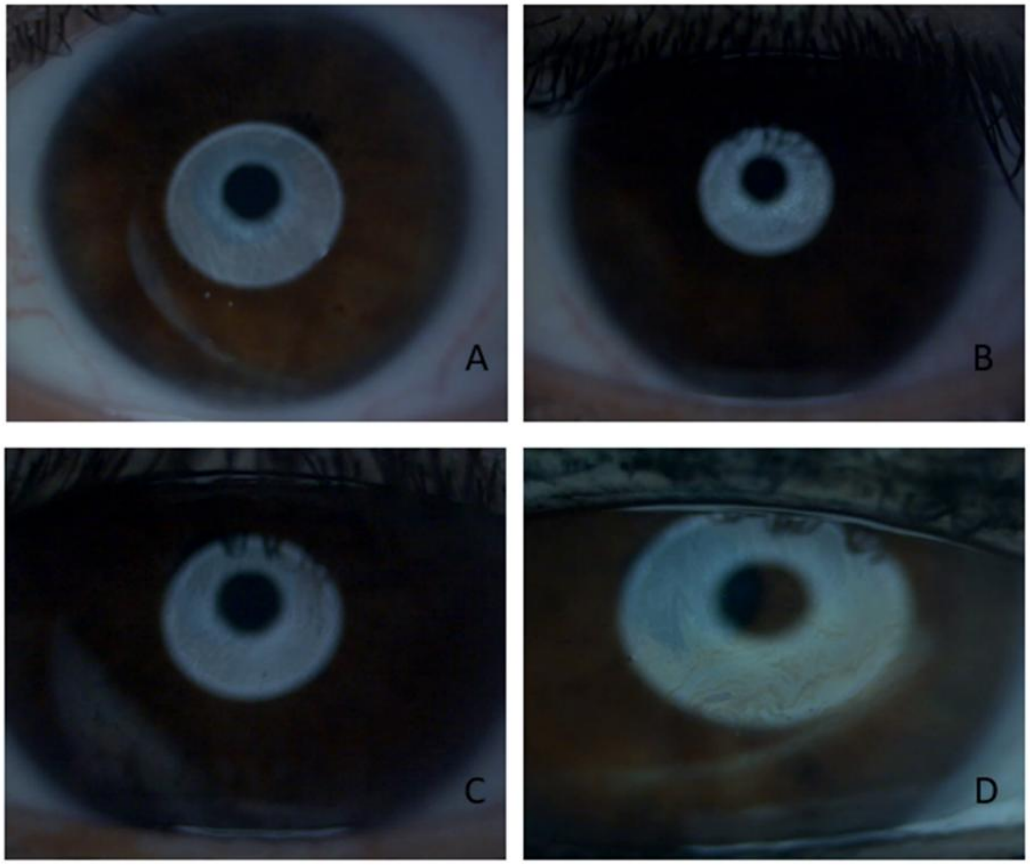


Figura 28 - Esquema de características del color de los patrones lipídicos (LLP-C): A: LLP Gris; B: LLP Blanco; C: LLP Amarillo; D: LLP Marrón o superior. LLP: Lipid Layer Pattern.

Para la clasificación de las imágenes del LLP en ambas escalas, el grado predominante en ellas fue el seleccionado, en caso de que no existir esta predominancia el grado intermedio fue el elegido.

4.1.6 Evaluaciones mediante plataforma multi diagnóstica

El instrumento OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania), fue empleado para la realización de diferentes pruebas en los diferentes protocolos de los estudios de la presente tesis. El OCULUS Keratograph 5M es una plataforma multi diagnóstica que consta de diferentes iluminaciones y una cámara integrada (Figura 29). Permite la realización de diversas pruebas, tales como topografía, evaluación de las MG, tiempo de ruptura lagrimal, la medición de TMH y evaluación de la capa lipídica. Este instrumento se mantuvo en todas las mediciones conectado a un ordenador, desde el cual se usaba el software proporcionado por el

fabricante, para su correcto funcionamiento. Este software almacena los datos de evaluación de cada paciente, conformando una base de datos.

Figura 29 - OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).

4.1.6.1 Meibografía y medida del área de perdida de las glándulas de Meibomio

La evaluación de las MG se llevó a cabo mediante la técnica de meibografía. Para su realización se empleó la iluminación de diodos infrarrojos (840 nm) proporcionada por la función "Meibografía" de propio Keratograph 5M.[156, 182]

Los pacientes fueron instruidos para colocarse cómodamente en la mentonera del aparato. Seguidamente, se les pidió que miraran hacia arriba mientras se evertía el párpado inferior para obtener una correcta visualización de las MG inferiores y capturarlas en imagen (Figura 30).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

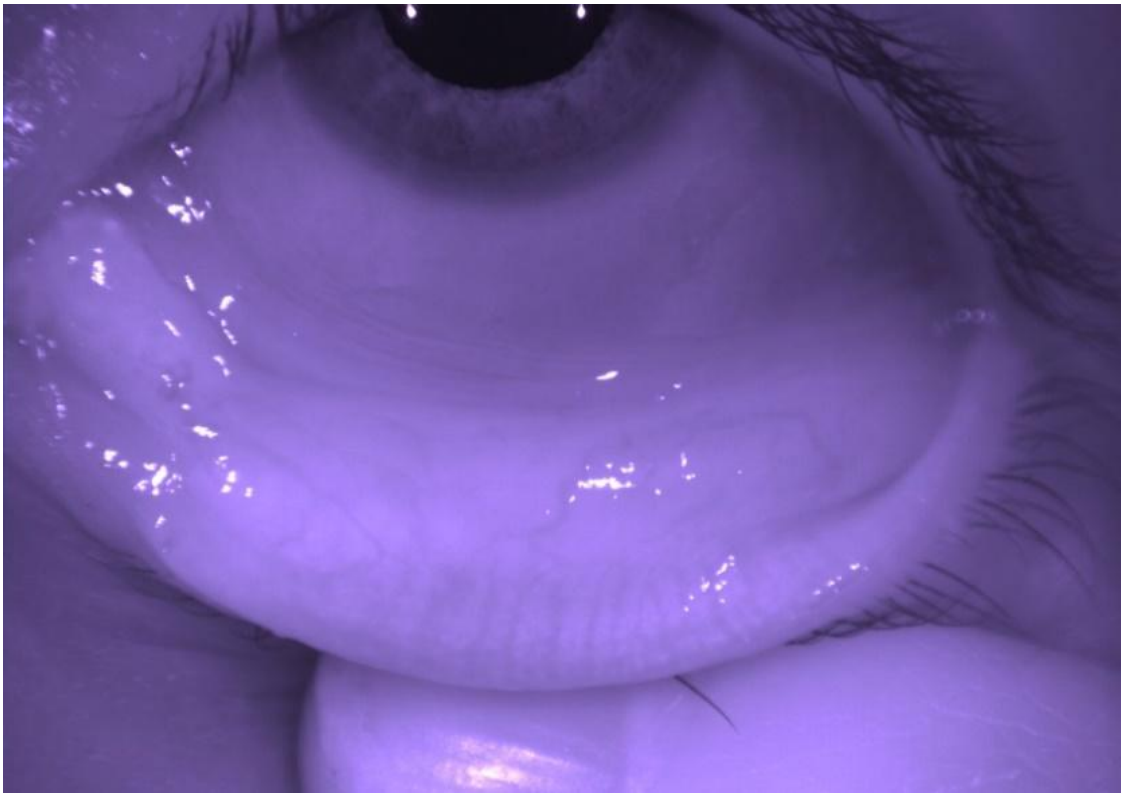


Figura 30 - Observación de las Glándulas de Meibomio tras eversión del párpado inferior mediante el Keratograph 5M.

A pesar de que el software del dispositivo cuenta con una herramienta que ayuda a la gradación de la pérdida de MG mediante criterios subjetivos, por lo que se optó por extraer las imágenes obtenidas de manera manual para su evaluación. Estas imágenes fueron evaluadas empleando el software ImageJ v1.53t (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EE. UU; http://imagej.nih.gov/ij/), con el objetivo de obtener la mayor resolución posible.[50] Con este software primeramente se mejoró el contraste de las imágenes y se midió el Área de Pérdida de las MG (MGLA siglas del inglés para Meibomian Gland Loss Area). Para realizar este cálculo se midieron dos áreas; la correspondiente a la totalidad del tarso y la correspondiente al área que ocupaban las MG. Una vez definida cada área, en el menú del software de ImageJ se selecciona la opción "Analyse" seguido del comando "Measure", y automáticamente nos proporciona el número de pixeles correspondiente a las áreas (Figura 31).[101] Estos valores fueron extraídos a una hoja de Excel para calcular la diferencia entre ambas áreas, obteniéndose el valor de MGLA.[101] Finalmente, el valor de MGLA fue expresado en porcentaje.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

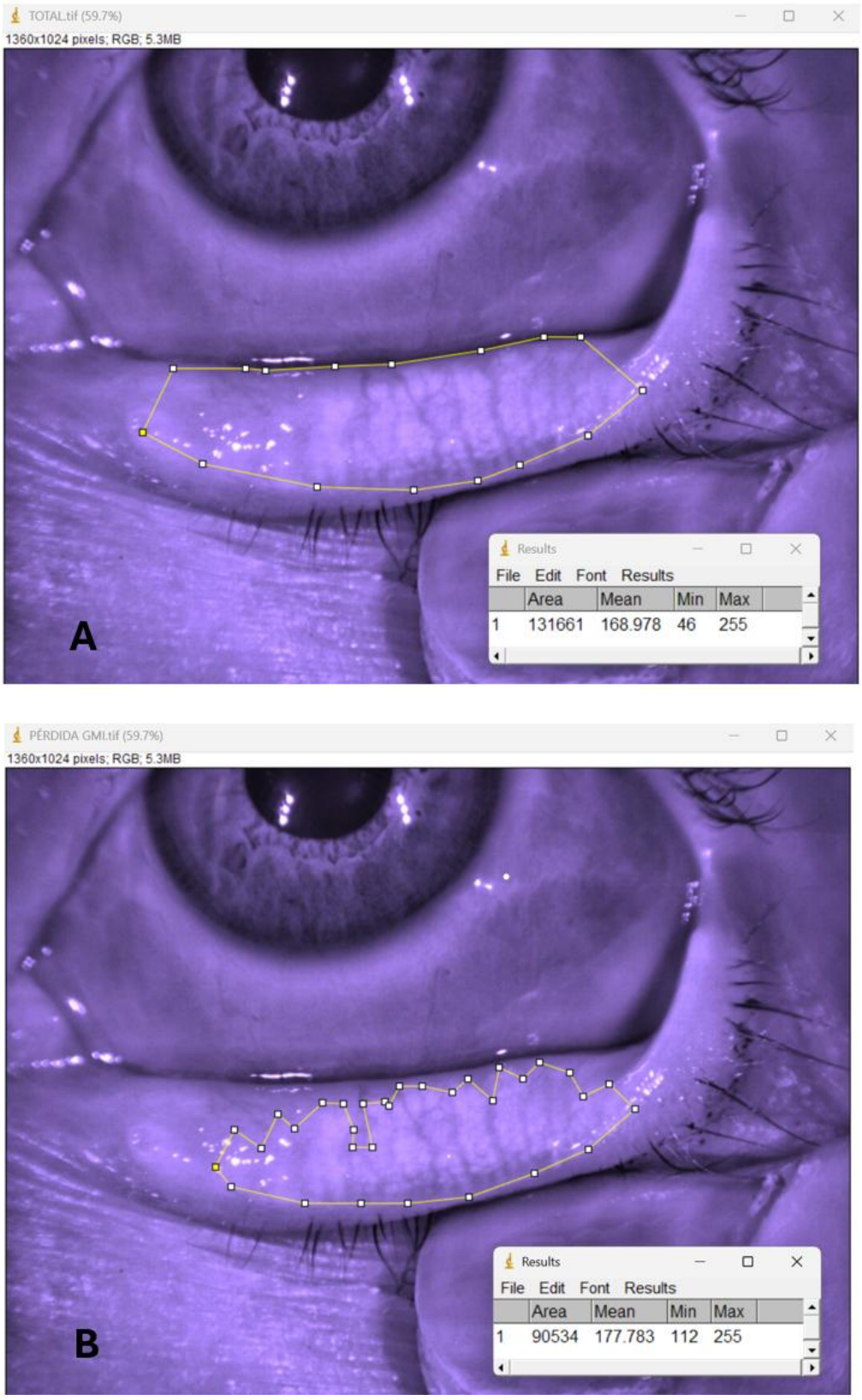


Figura 31- Medida de MGLA mediante el software ImageJ. A (área total del GM). B (Área de GM) MGLA: Área de Perdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). MG: Glándulas de Meibomio

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Adicionalmente al valor de porcentaje utilizado en los análisis de carácter continuo, se estableció un grado de perdida para los análisis de carácter categórico en base a dicha pérdida. Para la categorización de la MGLA se siguió la escala proporcionada por Pult et al.[183], que establece 4 grados de pérdida: Grado 1 con una pérdida < 25%, Grado 2 con una pérdida entre el 25 y el 50%, Grado 3 con una pérdida de entre el 50 y el 75%, y Grado 4 con una pérdida ≥ 75%.

4.1.6.2 Tiempo de ruptura lagrimal

El tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína o TFBUT, que permite evaluar la estabilidad de la película lagrimal en la córnea, fue evaluado empleando la iluminación de diodos azules (465m) proporcionada por el Keratograph 5M y mediante la instilación de fluoresceína sódica en la conjuntiva bulbar inferior para mejorar su visualización.[98, 184-186] El tinte de fluoresceína empleado fue una tira FluoStrips (Contacare Ophtalmics and Diagnostics, Gujarat, India) hidratada con solución salina Saline Unidose (Avizor S.A., Torrejón de Ardoz, Madrid, España) (Figura 32).

Figura 32 – Tiras de fluoresceína y solución salinas empleadas respectivamente.

Los pacientes fueron instruidos para colocarse cómodamente en la mentonera del aparato y dirigir su mirada hacia el techo. Seguidamente, se les aplicó la tira de fluoresceína ya hidratada en la zona temporal de su conjuntiva bulbar inferior. Después de la instilación, se les indicó que parpadearan con normalidad para lograr una mezcla adecuada del tinte. Posteriormente, se les pidió que realizaran 3 parpadeos seguidos y que aguantaran lo máximo que pudieran sin parpadear, mientras mantenían su mirada al centro del aparato, donde este emitía una luz de fijación roja. Este procedimiento fue repetido 3 veces y grabado en video por el propio dispositivo, almacenándose los videos en su base de datos.

Una vez obtenidos los videos, estos fueron extraídos a un ordenador para ser evaluados apoyándose con el software VirtualDub (Avery Lee, GNU;

USC DE COMPOSTELA

https://www.virtualdub.org/download.html), el cual proporciona los segundos del video grabado en fotogramas.[97, 98] Siendo el TFBUT definido como el tiempo transcurrido entre el último parpadeo y el primer punto o mancha negra detectado en la película lagrimal, este fue calculado mediante el siguiente procedimiento. El observador que evaluaba el TFBUT empleando el software mencionado, anotaba el fotograma del video cuando el participante realizaba el tercer parpadeo, posteriormente anotaba el fotograma de cuando observaba la rotura y tras el parpadeo reflejo anotaba el último fotograma (Figura 33). Este proceso fue repetido 3 veces. Todos estos fotogramas eran anotados en una hoja de cálculo de Excel para el cálculo del TFBUT. Para este cálculo se tuvo en cuenta que a la cámara del Keratograph 5M grababa a una velocidad de 8 fotogramas por segundo. Durante todo el proceso el observador tenía la posibilidad de ver el video grabado las veces que le fueran necesarias.[102]

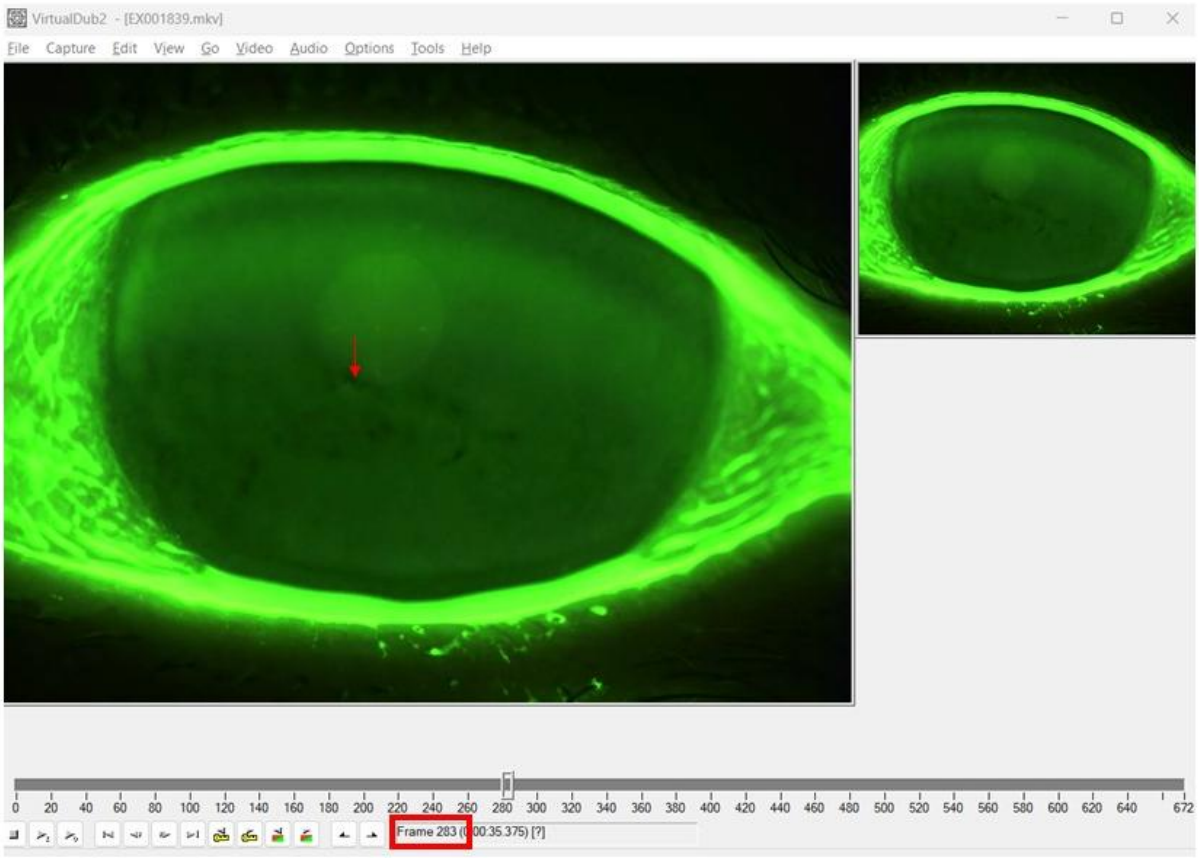


Figura 33 – Software VirtualDub: selección del fotograma en el cual se produce el TFBUT. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).

4.1.6.3 Intervalo máximo entre parpadeos

El intervalo máximo entre parpadeos, o MBI, fue evaluado mientras se realizaba la medida del TFBUT.[17, 111, 187] Este MBI, definido como el máximo tiempo que un paciente es capaz de mantenerse con los ojos abiertos tras cada parpadeo, fue analizado del video grabado en la medida del TFBUT y extraído a un ordenador para ser evaluados con el software VirtualDub (Avery Lee, GNU; https://www.virtualdub.org/download.html).[97, 102]

El cálculo se realizó contabilizando los fotogramas que transcurrirían entre el primer parpadeo y el último, mientras a estos se les pedía que permaneciesen con los ojos abiertos todo

lo posible (Figura 34). Una vez contabilizaos los fotogramas, estos fueron convertidos a segundos, teniendo en cuenta que el Keratograph 5M grababa a una velocidad de 8 fotogramas por segundo.[102]

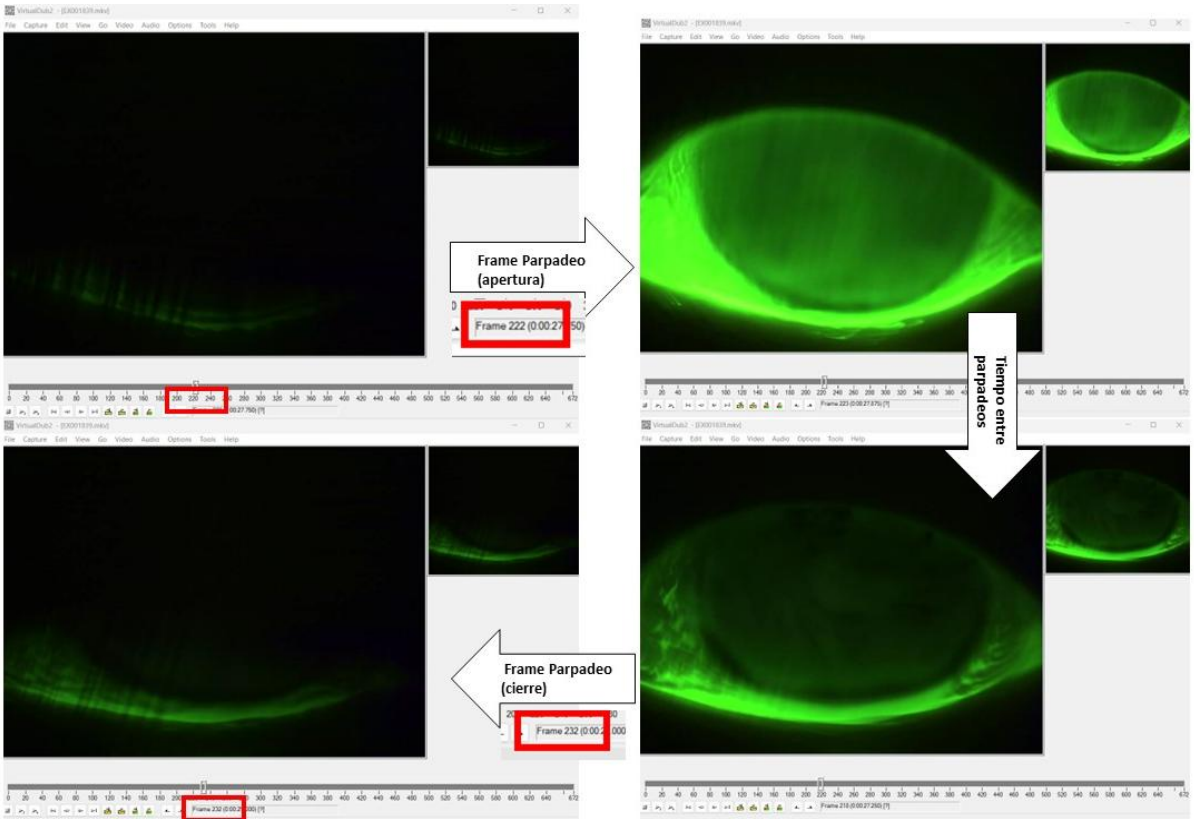


Figura 34 - Secuencia de fotogramas proporcionados por el software VirtualDub para el cálculo del MBI. MBI: Intervalo Máximo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval).

4.1.6.4 Tinciones corneales

Las tinciones corneales fueron evaluadas inmediatamente después de realizar las pruebas de TFBUT y MBI, debido a que esta prueba requiere de la instilación de fluoresceína. Se mantuvo también la misma iluminación de diodos azules del Keratograph 5M.[185] Para observar la totalidad de la córnea y buscar los posibles daños en ella, se pidió a los participantes que realizaran las 4 posiciones de mirada principales: nasal, temporal, superior e inferior.[184] El procedimiento fue grabado en video con la propia cámara del aparato, seguidamente los videos fueron almacenados en su software y posteriormente extraídos a un ordenador.

Una vez extraídos los videos, de ellos se obtuvo por cada posición de mirada la imagen que ofrecía mayor resolución mediante el software VLC, de esta formase obtuvo una gradación de la tinción más exhaustiva. Las imágenes fueron evaluadas y clasificadas siguiendo el esquema Oxford (Figura 35).[126] Este presenta 6 grados de presencia de tinción que representan el daño en la superficie ocular: Grado 0 (ausencia de tinción), Grado 1 (tinción mínima), Grado 2 (tinción media), Grado 3 (tinción moderada), Grado 4 (tinción marcada) y Grado 5 (tinción severa).[126]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

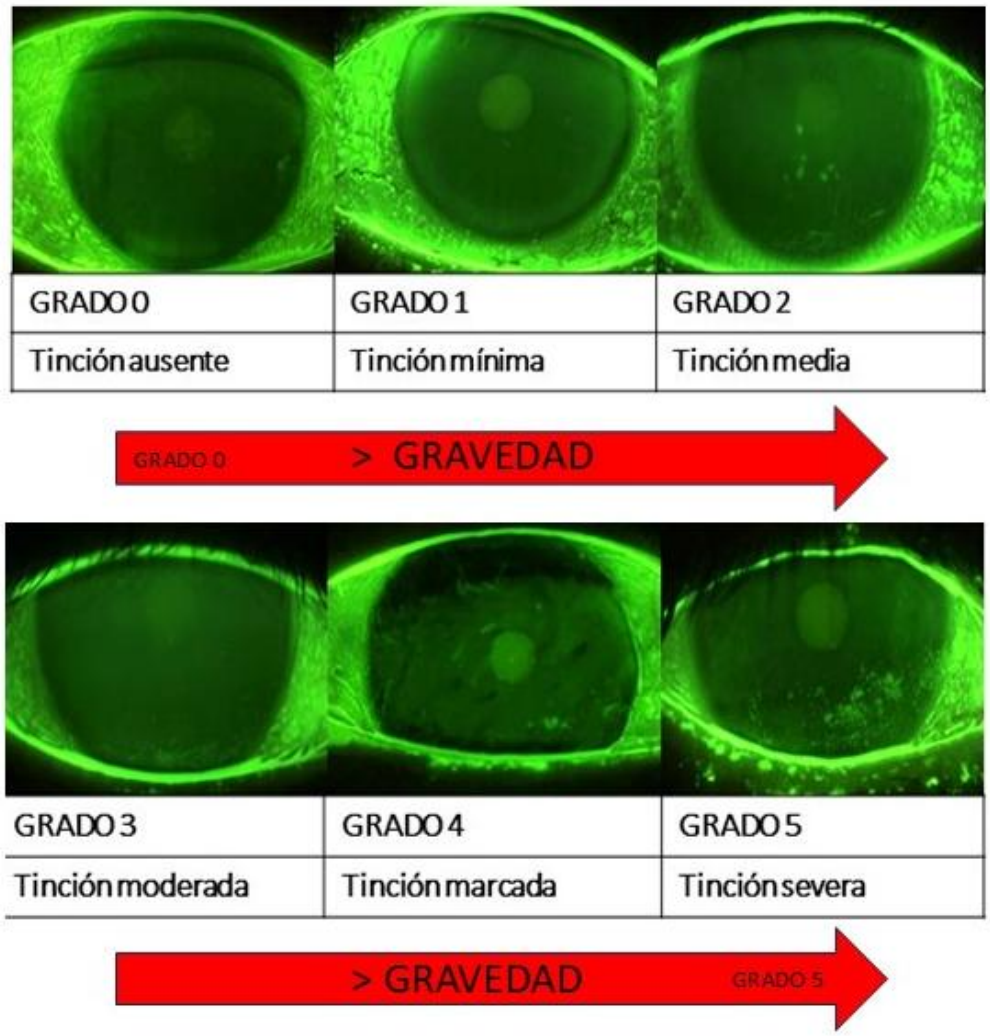


Figura 35 - Esquema Oxford para la clasificación de la tinción corneal. Grado 0: Tinción ausente; Grado 1: Tinción mínima; Grado 2: Tinción media; Grado 3: Tinción moderada; Grado 4: Tinción marcada, Grado 5: Tinción severa.

4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Durante la presente tesis, los análisis estadísticos fueron realizados empleando el software estadístico IBM SPSS v.25 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL). Para todos los análisis realizados, se estableció un umbral de significancia estadística de $p \leq 0,05$. Este nivel de significancia se considera un estándar común en la investigación científica, indicando que cualquier resultado con un valor p inferior o igual a 0,05 tiene una probabilidad inferior al 5% de haber ocurrido por azar, lo que permite inferir que los resultados son estadísticamente significativos y no fruto de la casualidad.

4.2.1.1 Análisis del tipo de distribución en la muestra

Antes de proceder con los análisis, se evaluó la normalidad de la muestra utilizando pruebas estadísticas adecuadas al tamaño de esta. Para las muestras pequeñas ($n \leq 50$), se empleó el test de Shapiro-Wilk, que es especialmente sensible y apropiado para conjuntos de

USC DE COMPOSTELA

datos más reducidos. En cambio, para las muestras más grandes (n > 50), se utilizó el test de Kolmogórov-Smirnov, más adecuado para evaluar la normalidad de las distribuciones en muestras de mayor tamaño. Ambas pruebas se aplicaron con el fin de garantizar que se cumplían los supuestos de normalidad antes de continuar con los análisis estadísticos, dado que este paso es crucial para determinar la idoneidad de utilizar pruebas paramétricas.[188]

4.2.1.2 Análisis de diferencias, asociación y correlación

Según la distribución de los datos, se llevaron a cabo los análisis de diferencias, asociación y correlaciones correspondientes. Si los datos seguían una distribución normal, se aplicaron pruebas paramétricas, que son más potentes y permiten obtener conclusiones más precisas bajo este supuesto. En caso de que los datos no cumplieran con los criterios de normalidad, se utilizaron análisis no paramétricos, los cuales no requieren que los datos sigan una distribución específica y son más apropiados para manejar distribuciones asimétricas o con varianzas desiguales.

- Datos con distribución paramétrica: Las diferencias generales se calcularon mediante un análisis ANOVA, seguido del *post-hoc* de Bonferroni o de Tukey para comparaciones por pares. En las comparaciones de los grupos, se utilizó t-test para muestras independientes.[188-190]
- Datos con distribución no paramétrica (no categóricos): Las diferencias generales se calcularon mediante un test de Kruskal-Wallis, seguido del test de Wilcoxon para comparaciones por pares, aplicando la corrección de Bonferroni ajustando el valor de significancia en función del número de comparaciones.[188, 193] En las comparaciones de dos grupos, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney.[188] Las correlaciones se evaluaron con la prueba de Spearman.[188] En los análisis de muestras repetidas fueron analizados empleando el test de Homogeneidad Marginal.[188]
- Datos con distribución no paramétrica (categóricos): se emplearon tablas de contingencia para comparar el estatus diagnóstico de cada paciente, obtenido las asociaciones mediante Chi-cuadrado en los casos binomiales y la prueba exacta de Fisher en casos donde la distribución muestral de grupos era inferior a 5 en alguno de los casos.[188] Las correlaciones se evaluaron con la V de Cramer.[188]

4.2.1.3 Análisis de sensibilidad, especificidad y criterios de corte

En los casos donde se requirió del cálculo de valores de corte para diferenciar entre tipologías o severidades, se utilizó el análisis de la Característica Operativa del Receptor (ROC siglas del inglés para Receiver Operating Characteristic).[134, 194, 195] Este valor de corte teórico del valor más bajo a más alto encontrado en la muestra, se usó para estimar la sensibilidad y la especificidad de la medida objetivo. A su vez los resultados se mostraron en un gráfico con la sensibilidad como una función de (1-especificidad). Este método es representativo de la relación entre los supuestos valores de corte y la efectividad del test o prueba realizada. Este proporciona una forma cómoda de seleccionar el umbral que finalmente proporciona la mejor combinación entre sensibilidad y especificidad, escogiéndose como valor de corte óptimo el punto de inflexión de la curva. El poder discriminatorio del modelo de clasificación predictiva propuesto se proporcionó como el valor dado por el Área Bajo la Curva (AUC, siglas del inglés para Area Under the Curve) ± Desviación Estándar (DE), que comprende un rango desde 0 a 1, donde cuanto más próximo a 1 sea este valor sen obtiene un poder de discriminación más

USC DE COMPOSTELA

perfecto. Los intervalos de confianza (IC) del AUC tanto superior como inferior también fueron proporcionados (Media ± 1,96 x DE). El valor máximo del estadístico J de Youden fue calculado (J = sensibilidad + especificidad -1) para elegir el mejor valor de corte numérico basado en la curva ROC, siendo este el punto de giro en la curva. Este estadístico capta el mayor rendimiento posible de una prueba diagnóstica en un único parámetro en el que el número de falsos positivos y falsos negativos es igual.

Para validar el punto de corte obtenido se realizó un segundo análisis empleando un método de validación cruzada. En cada iteración del análisis se seleccionó aleatoriamente el 80% de los datos para su reanálisis utilizando las funciones correspondientes en el software SPSS. La variable de estudio se transformó en un parámetro dicotómico basado en el punto de corte previamente calculado, donde 0 indicaba un diagnóstico negativo y 1 un diagnóstico positivo. A continuación, se evaluó la asociación entre esta nueva variable dicotómica y el diagnóstico inicial según el criterio de referencia utilizado mediante el cálculo de la V de Cramer. Este estadístico se utilizó para medir la fuerza de la asociación, donde un valor de 0 indicaba una ausencia total de predictibilidad y un valor de 1 correspondía a una capacidad predictiva perfecta.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5 PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS

5.1 ESTUDIO 1 – CATEGORIZACIÓN DEL OJO SECO POR DEFICIENCIA ACUOSA MEDIANTE EL CRITERIO DE CORTE DE LA ALTURA DEL MENISCO LAGRIMAL MEDIDO CON TEARSCOPE

5.1.1 Protocolo del estudio

Este estudio buscaba cumplir el objetivo secundario 1 "Establecer un nuevo criterio de corte basado en la medida del TMH con el interferómetro Tearscope para diferenciar entre ADDE y EDE, y clasificar la severidad en participantes con ADDE". Para ello, se realizó un diseño de estudio de tipo transversal en el que fueron reclutados sujetos que acudieron al Servicio de Optometría de la USC remitidos con un diagnóstico previo de DED, para una revisión ocular rutinaria. El presente estudio se corresponde con la publicación: Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life* 2022; 12(12).

5.1.1.1 Características de la muestra y criterios de inclusión y exclusión

En este estudio fueron incluidos un total de 200 participantes voluntarios con una edad media ± DE de 42,84 ± 16,86 años. Estos participantes habían acudido previamente al Servicio de Optometría para un examen visual rutinario, y siguiendo los criterios diagnósticos del TFOS DEWS II eran compatibles con un diagnóstico de DED. Los valores de corte para determinar la compatibilidad con la DED en las diferentes pruebas diagnósticas fueron los siguientes: en relación con la sintomatología, se consideró una compatibilidad si se obtiene una puntuación en el test de sintomatología OSDI ≥ 13 puntos; en cuanto a los signos, se estableció compatibilidad si se presentaba una osmolaridad lagrimal ≥ 308 mOsm/l, un TFBUT < 10 segundos y/o un grado de tinción corneal ≥ 2 (siguiendo el esquema de Oxford)[17, 37]. Además, todos los participantes cumplían los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- Ser mayor de 18 años.
- No estar tomando ningún tipo de medicación, ni usando ningún tipo de lágrimas artificiales.
- No tener una historia previa de enfermedades /o cirugías oculares.
- No presentar infecciones oculares.
- No presentar ni padecer: glaucoma, enfermedades sistémicas, enfermedades de tipo autoinmune o diabetes mellitus.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- No estar embarazada o en periodo de lactancia.
- No portar lentes de contacto.

5.1.1.2 Diseño

A todos los sujetos que participaron en el estudio, se les solicitó que completaran un cuestionario de sintomatología ocular de forma online, denominado "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular" (Anexo II) previo a someterse al examen ocular. Posteriormente, a los participantes voluntarios se les realizó una serie de pruebas clínicas siguiendo las guías de diagnóstico y clasificación proporcionadas por el TFOS DEWS II.[17] Una vez realizadas estas medidas, los participantes fueron clasificados en dos grupos dependiendo el tipo de DED que presentaran, según los siguientes criterios:[17, 37]

- Grupo ADDE: aquellos participantes que presentaban un TMH-SL < 0,20 mm y un LLP-G superior al tipo Marmóreo Cerrado, siendo un total de 79 participantes. Además, el total de los participantes de este grupo fueron subclasificados en ADDE de tipo Leve-Moderado aquellos que presentaba un TMH-SL ≥ 0,10 siendo un total de 64 participantes y en ADDE de tipo Moderado-Severo aquellos con un TMH-SL < 0,10 mm, siendo un total de 15 participantes.
- Grupo EDE: aquellos participantes que presentaban un TMH-SL ≥ 0,20 mm y un LLP-G igual o inferior al tipo Marmóreo Cerrado, siendo un total de 66 participantes.

Aquellos participantes que presentaron un TMH-SL < 0,20 mm y a su vez un LLP-G de tipo igual o inferior a Marmóreo Cerrado, correspondiendo con un MDE, no fueron incluidos en el análisis para evitar la posible interferencia de los resultados.[37] En la Tabla 3 se muestra de forma esquemática los grupos en los que se clasificó a los participantes.

Tabla 3 -Grupos en los que se dividió la muestra en función de su TMH-SL y su LLP-G, así como los subgrupos en función de la gravedad del grupo ADDE. ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueos Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry E Eye). LLP-G: Patrón lipídico interferencial según a escala de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). TMH-SL: Altura del menisco lagrimal medida con lámpara de hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp).

Grupos	LLP-G	TMH-SL	Subgrupo de Gravedad
ADDE	> Marmóreo Cerrado	< 0,20 mm	Leve-Moderado: < 0,20 mm y ≥ 0,10 mm
			Moderado-Severo: < 0,10 mm
EDE	≤ Marmóreo Cerrado	≥ 0,20 mm	

5.1.1.3 Procedimientos

Este estudio se realizó en una única sesión clínica, en la cual se realizó el protocolo donde cada una de las pruebas clínicas siguió la forma descrita en el apartado de "Material y método". Estas pruebas fueron realizadas siempre en el mismo orden, de menor a mayor invasividad, siendo: osmolaridad de la película lagrimal, TMH-SL, TMH-Tc, LLP, TFBUT y tinciones corneales.[17] La Tabla 4 describe estas pruebas de forma más detallada y los parámetros analizados en cada una de ellas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 4 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TMH-SL: Altura de Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).

Parámetro	Material	Método	Categorización
Sintomatología de sequedad ocular	Cuestionario de sintomatología OSDI.	Cumplimentación del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".	4 categorías de gravedad: - Normal [0- 13) - Medio [13 – 22) - Moderado [22 -32) - Severo [32 – 100)
Osmolaridad de la película lagrimal	Osmómetro TearLab.	Toma de lagrima con el dispositivo según el método descrito por el fabricante.	Valores > 308 mOsm/l se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
TMH-SL	Lámpara de hendidura SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) y cámara DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) para iluminación y visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 40x y una franja de iluminación de 5mm de alto y 3mm de ancho e intensidad moderada. Se realiza un video del menisco central situado a las 6 h en punto con referencia a la pupila. La medida exacta en mm de su altura se realiza con el programa ImageJ.	Valores < 0,20 mm se relacionan con ADDE.
TMH-Tc	Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) para iluminación acoplado a lámpara de Hendidura SL-D4 y cámara DC-4 para visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 40x empleando la iluminación más brillante del Tearscope. Se realiza un video del menisco lagrimal centra situado a las 6 h con referencia a la pupila. La medida exacta en mm se realiza con el programa ImageJ.	Valores < 0,16 mm se relacionan con ADDE.
LLP	Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) para iluminación acoplado a lámpara de Hendidura SL-D4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) y cámara DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) para visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 16 x y la iluminación más brillante proporcionada por el Tearscope. Se realizó un video del LLP cuando estaba totalmente expandido tras cada parpadeo.	Categorización del LLP de menor a mayor grosor, siguiendo el esquema de Guillon: -Marmóreo Abierto -Marmóreo Cerrado -Fluido -Amorfo -Coloreado
TFBUT	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de video durante el TFBUT. -Los videos obtenidos son analizados con el programa VirtualDub, convirtiendo los fotogramas de estos en segundos (8 fotogramas = 1 segundo).	Valores < 10 segundos se relacionan con una alteración de la superficie ocular.

Las medidas fueron realizadas y registradas por el mismo examinador en una única sesión para evitar de esta manera la posible variabilidad entre observadores y sesiones.[17] Aunque se

evaluaron ambos ojos en todos los participantes, debido a la naturaleza del estudio, solamente se seleccionaron para su análisis los datos del OD de cada participante con el fin de evitar una sobrestimación estadística.[196, 197] Todo el protocolo del estudio se realizó en condiciones ambientales controladas de luz, temperatura (20-23ºC) y humedad (50-60%).[17]

5.1.1.4 Análisis estadístico

El análisis de normalidad mostró que tanto osmolaridad, TFBUT, TMH-SL como TMH-Tc seguían una distribución normal (Shapiro-Wilk, todos $p > 0,05$), mientras que la puntuación OSDI, la tinción corneal y el LLP no seguían una distribución normal (Shapiro-Wilk, todos $p < 0,05$).[188] Debido a esto las diferencias entre los valores en cada parámetro entre grupos o subgrupos fueron analizadas empleado el t-test para muestras no relacionadas en las variables paramétricas, y el test U de Mann-Whitney en las variables no paramétricas.

En un primer análisis se calculó el valor de corte del TMH-Tc para diferenciar entre participantes con ADDE y EDE, así como entre ADDE Leve-Moderado y ADDE Moderado-Severo, utilizando el análisis de la curva ROC.[134, 194, 195] Para ello, se empleó el índice de Youden, representando la sensibilidad en función de (1-especificidad), y se evaluó el poder discriminatorio del modelo predictivo mediante el valor del AUC ± DE, junto con sus respectivos IC. En un segundo análisis, se utilizó la validación cruzada con un muestreo aleatorio del 80% de los datos para confirmar el punto de corte del TMH-Tc. Para ello, se transformó esta variable en dicotómica, y se evaluó su asociación con el diagnóstico inicial del TFOS DEWS II mediante la V de Cramer.

5.1.2 Resultados del estudio

Los estadísticos descriptivos de las medidas realizadas a los 200 participantes que conformaron la muestra total se describen en la Tabla 5. Estos estadísticos se proporcionaron con la media y la DE para los parámetros que seguían una distribución normal mientras que para los parámetros que no seguían una distribución normal se proporcionó la mediana y el Rango Intercuartílico (IQR, siglas del inglés para Intercuartile Range), además de los valores de mínimo y máximo.

Tabla 5 - Estadísticos descriptivos de la muestra total del presente estudio (n=200). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetro paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos.

		Edad (Años) *	OSDI (Puntuación) **	Osmolaridad (mOsm/l) *	Tinción corneal (Escala Oxford) **	TFBUT (s)*	TMH-SL (mm)*	LLP (Escala de Guillon) **	TMH-Tc (mm) *
Muestra total	Media/ Mediana	42,84	25,00	318,40	1,00	7,76	0,186	Marmóreo Cerrado	0,173
	DE/IQR	16,86	18,75 -35,42	18,51	0,00 – 1,00	6,17	0,089	Marmóreo Abierto-Fluido	0,077
	Mínimo	18,00	12,50	275,00	0,00	1,45	0,06	Marmóreo Abierto	0,04
	Máximo	71,00	77,08	400,00	4,00	41,60	0,74	Coloreado	0,64

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.1.2.1 Análisis del valor del TMH-Tc como criterio de corte para diferenciar entre ADDE y EDE

Los estadísticos descriptivos de todos los parámetros evaluados para el grupo ADDE y el grupo EDE, se muestras en la Tabla 6. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad, puntuación OSDI, osmolaridad lagrimal, TFBUT o tinciones corneales en la distribución entre grupos (todos $p \geq 0{,}090$), mientras que si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de TMH-SL, TMH-Tc y LLP (todos $p \leq 0{,}001$).

Tabla 6 -Estadísticos descriptivos para los grupos ADDE (n=79) y EDE (n=66). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados para los parámetros no paramétricos. † Test T de Student. ‡ Test U de Mann-Whitney.

		Edad (Años) *	OSDI (Puntuación) **	Osmolaridad (mOsm/l) *	Tinción Corneal (Escala Oxford) **	TFBUT (s) *	TMH-SL (mm) *	LLP (Escala Guillon) **	TMH-Tc (mm) *
ADDE	Media/ Mediana	46,14	25,00	319,83	1,00	8,55	0,140	Fluido	0,143
	DE/IQR	14,95	18,75–39,58	16,51	0,00–1,50	6,17	0,037	Fluido-Amorfo	0,054
	Mínimo	18,00	12,50	291,00	0,00	1,45	0,060	Fluido	0,04
	Máximo	71,00	60,42	400,00	4,00	41,60	0,190	Coloreado	0,33
EDE	Media/ Mediana	42,86	22,57	312,50	1,00	7,39	0,270	Marmóreo Cerrado	0,228
	DE/IQR	18,66	16,67–34,09	19,42	0,00–100	4,20	0,105	Marmóreo Abierto — Marmóreo Cerrado	0,092
	Mínimo	18,00	12,50	275,00	0,00	1,83	0,200	Marmóreo Abierto	0,080
	Máximo	71,00	77,08	400,00	4,00	22,75	0,740	Marmóreo Cerrado	0,640
	p	0,260 ‡	0,142 †	0,090 ‡	0,300 †	0,300 ‡	<0,001 ‡	<0.001 †	<0,001 ‡

El cálculo ROC mostró que la medida del TMH-Tc tiene capacidad diagnóstica para diferenciar entre los participantes con ADDE y los participantes con EDE (AUC = 0,843 ± 0,0354, $p < 0{,}001$, IC del 95% = 0,774 – 0,912). A partir del cálculo del índice de Youden (estadístico J de Youden = 0,617) se obtuvo como valor de corte un TMH-Tc de 0,159 mm con una sensibilidad del 86,4% y especificidad del 75,4%, para diferenciar entre los participantes con ADDE y participantes con EDE (Figura 36). Para evaluar la posible variabilidad de los

datos, se realizó el análisis de validación cruzada que abarcó el 80% de la muestra de forma aleatoria, mostrando una fuerte asociación entre el valor obtenido del TMH-Tc y los criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II para diferenciar entre sujetos con ADDE y con EDE (V de Cramer = 0,657, $p < 0,001$).

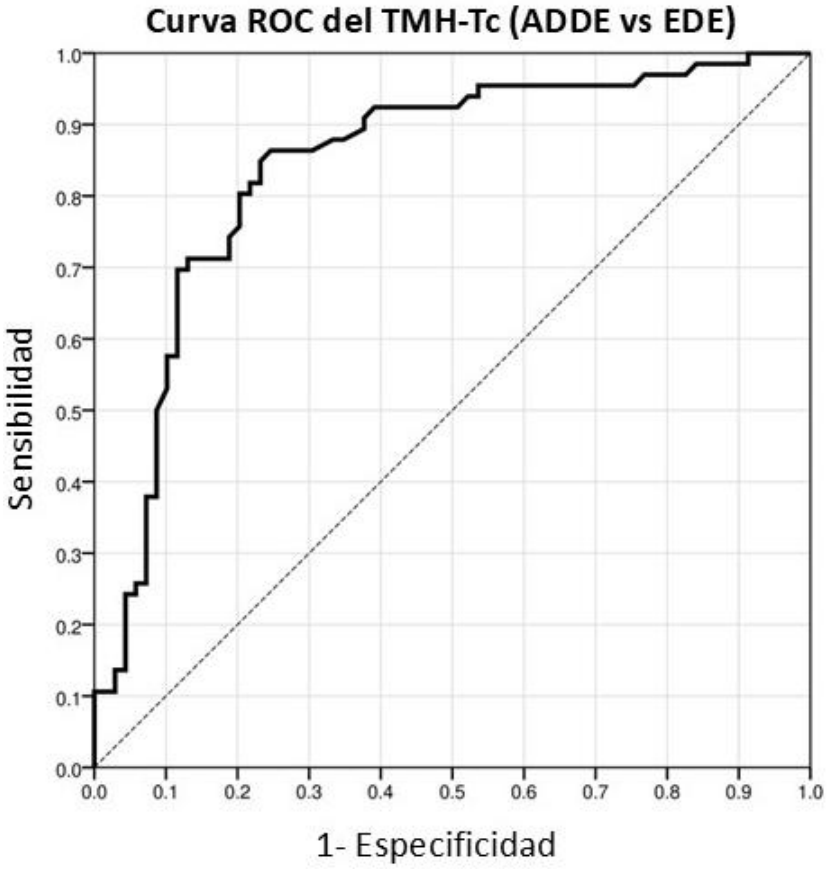


Figura 36 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE frente a EDE). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic.

5.1.2.2 Análisis del Valor del TMH-Tc como criterio de corte para diferenciar entre ADDE Leve-Moderado y ADDE Moderado-Severo

Los estadísticos descriptivos de todos los parámetros evaluados para los subgrupos de ADDE Leve-Moderado y ADDE Moderado-Severo se muestran en la Tabla 7. No se ha encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad, puntuación OSDI, osmolaridad lagrimal, tinciones corneales o LLP en la distribución entre los subgrupos de ADDE (todos $p \geq 0,052$), mientras que si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en os valores de TFBUT, TMH-SL y TMH-Tc (todos $\leq 0,047$).

Tabla 7 - Estadísticos descriptivos para os grupos ADDE Leve-Moderado (n=64) y ADDE Moderado-Severo (n=15). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range) OSDI: Ocular: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetros

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos. †Prueba t-test. ‡ Test U de Mann-Whitney.

		Edad (Años) *	OSDI (Puntuación) **	Osmolaridad (mOsm/) *	Tinción Corneal (Escala Oxford) **	TFBUT (s) *	TMH-SL (mm) *	LLP (Escala Guillon) **	TMH-Tc (mm) *
ADDE Leve-Moderado	Media/Mediana	45,24	29,17	317,65	1,00	9,45	0.157	Fluido	0,159
	DE/IQR	15,16	18,75 - 37,50	13,35	0,00 - 1,00	8,68	0.022	Fluido - Amorfo	0,050
	Mínimo	18,00	12,50	291,00	0,00	1,75	0.011	Fluido	0,070
	Máximo	68,00	60,42	368,00	3,00	14,60	0.200	Coloreado	0,330
ADDE Moderado -Severo	Media/Mediana	48,40	25,00	327,13	1,00	4,91	0.081	Fluido	0,228
	DE/IQR	14,45	20,00 - 41,67	23,81	0,00 - 2,00	3,01	0.023	Fluido - Coloreado	0,092
	Mínimo	20,00	12,50	303,00	0,00	1,45	0.060	Fluido	0,080
	Máximo	71,00	60,42	400,00	4,00	10,45	0,100	Coloreado	0,640
	p	0,513‡	0,884†	0,052‡	0,056†	0,047‡	<0,001‡	0,222†	<0,001‡

El cálculo ROC mostró que la medida del TMH-Tc tiene capacidad diagnóstica para diferencia entre las diferentes severidades de los participantes con ADDE (AUC = 0,953 ± 0,0230, p < 0,001, Intervalo de Confianza del 95% = 0,908 – 0.999). Mediante el cálculo del índice de Youden (estadístico J de Youden = 0,782) se obtuvo como valor de corte un TMH-Tc de 0,105 mm con una sensibilidad del 98,1% y especificidad del 80,0%, para diferenciar entre los participantes con ADDE Leve-Moderado y los participantes con ADDE Moderado-Severo (Figura 37). Para evaluar la posible variabilidad de los datos, se realizó el análisis de validación cruzada que abarcó el 80% de la muestra de forma aleatoria, mostrando una fuerte asociación entre el valor obtenido del TMH-Tc con los criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II para diferenciar entre participantes con ADDE Leve-Moderado y ADDE Moderado-Severo (V de Cramer = 0,854, p < 0,001).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

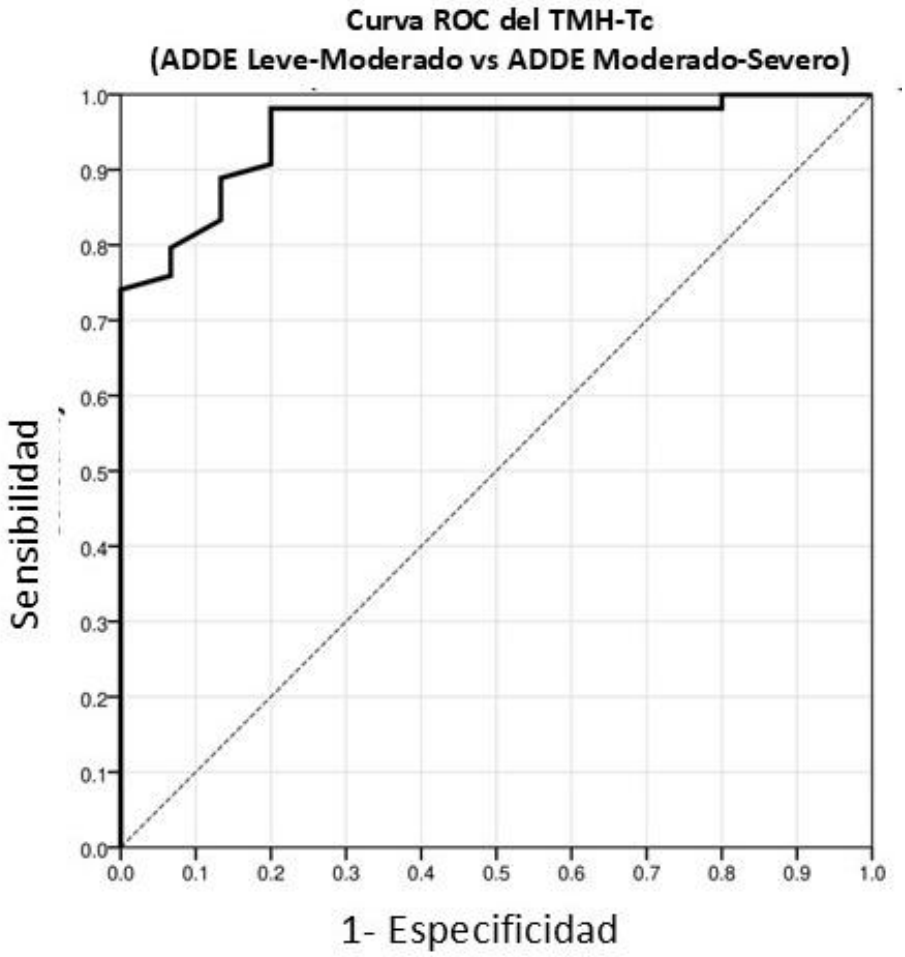


Figura 37 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE Leve-Moderado frente a ADDE Moderado-Severo). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic.

5.2 ESTUDIO 2 – VALORES DE CORTE BASADOS EN EL PATRÓN LIPÍDICO INTERFERENCIAL PARA LA EVALUACIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

5.2.1 Protocolo del estudio

Este estudio buscaba cumplir el objetivo secundario 2 "Establecer un criterio de corte para discriminar entre los subtipos de DED mediante la evaluación del LLP". Para ello, se realizó un diseño de estudio de tipo transversal, en el que fueron reclutados sujetos que acudieron al Servicio de Optometría de la USC remitidos con un diagnóstico previo de DED, para una revisión ocular rutinaria. A continuación, se describirá el protocolo seguido para la realización de este estudio. El presente estudio se corresponde con la publicación: Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment. *Journal of Clinical Medicine*, 14(2), 623.

5.2.1.1 Características de la muestra, criterios de inclusión y exclusión

En este estudio se incluyó a un total de 240 participantes voluntarios con una edad media ± DE de 48,30 ± 16,52 años. Estos participantes habían acudido al Servicio de

Optometría previamente para un examen visual rutinario y siguiendo los criterios diagnósticos del TFOS DEWS II eran compatibles con un diagnóstico de DED.[17, 37] Los valores de corte para determinar la compatibilidad con la DED en las diferentes pruebas diagnósticas son los siguientes: en relación con la sintomatología, se consideró una compatibilidad si se obtiene una puntuación en el test de sintomatología OSDI ≥ 13 puntos; en cuanto a los signos, se estableció compatibilidad si se presentaba una osmolaridad lagrimal ≥ 308 mOsm/l, un TFBUT < 10 segundos y/o un grado de tinción corneal ≥ 2 (siguiendo el esquema de Oxford).[17, 37, 48] Además, los participantes cumplían con los siguientes criterios de inclusión y exclusión generales:

- Ser mayor de 18 años.
- No estar tomando ningún tipo de medicación, ni usando ningún tipo de lágrimas artificiales.
- No tener una historia previa personal o familiar de enfermedades oculares.
- No haberse sometido a ninguna cirugía ocular.
- No presentar infecciones oculares.
- No presentar ni padecer: glaucoma, enfermedades sistémicas, enfermedades de tipo autoinmune o diabetes mellitus.
- No estar embarazada o en periodo de lactancia.
- No portar lentes de contacto.

5.2.1.2 Diseño

Los participantes voluntarios de este estudio fueron reclutados entre aquellos que acudieron a una revisión ocular rutinaria en el Servicio de Optometría de la USC y que presentaron una posible compatibilidad con el diagnóstico de DED, según los criterios diagnósticos proporcionados por TFOS DEWS II. A todos los participantes del estudio se les realizó una batería de pruebas clínicas de acuerdo con las guías proporcionadas por el TFOS DEWS II para el diagnóstico de DED.[17, 37] Una vez que los participantes fueron diagnosticados de DED, la muestra fue dividida en 3 grupos, siguiendo los subtipos de DED descritos en el TFOS DEWS II:[37]

- Grupo ADDE: aquellos participantes que presentaban un TMH-Tc < 0,16 mm junto un una MGLA < al 50%, siendo estos un total de 91 participantes.
- Grupo EDE: aquellos participantes que presentaban un TMH-Tc ≥ 0,16 mm junto con un MGLA ≥ al 50%, siendo estos un total de 103 participantes.
- Grupo MDE: aquellos participantes que presentaban un TMH-Tc< 0,16 mm junto con un MGLA ≥ al 50%, siendo estos un total de 46 participantes.

En la Tabla 8 se muestra de forma esquemática los grupos en los que se clasificó a los participantes.

Tabla 8 - Grupos de clasificación de la muestra siguiendo la clasificación proporcionada por el TFOS DEWS II para los subtipos de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye).MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye) TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area).

GRUPO	TMH-Tc	MGLA
ADDE	< 0,16 mm	< 50%

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

EDE	≥ 0,16 mm	≥ 50%
MDE	< 0,16 mm	≥ 50%

5.2.1.3 Procedimientos

Este estudio se realizó en una única sesión clínica en la cual se realizó el protocolo de pruebas clínicas de la forma descrita en el apartado de "Material y método". Estas pruebas fueron realizadas siempre en el mismo orden, de menor a mayor invasividad, siendo: cuestionario de sintomatología OSDI, osmolaridad de la película lagrimal, TMH-Tc, LLP, MGLA, TFBUT y tinciones corneales.[17] La Tabla 9 describe estas pruebas de forma más detallada, así como también los parámetros analizados en cada una de ellas.

Tabla 9 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el Esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el Esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).

Parámetro	Material	Método	Categorización
Sintomatología de sequedad ocular.	Cuestionario de sintomatología OSDI.	Cumplimentación del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".	4 categorías de gravedad: - Normal [0- 13) - Medio [13 – 22) - Moderado [22 -32) - Severo [32 – 100)
Osmolaridad de la película lagrimal.	Osmómetro TearLab.	Toma de lagrima con el dispositivo según el método descrito por el fabricante.	Valores > 308 mOsm/l se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
TMH-Tc	Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) para iluminación acoplado a lámpara de Hendidura SL-D4 y cámara DC-4 para visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 40x empleando la iluminación más brillante del Tearscope. Se realiza un video del menisco lagrimal centra situado a las 6 h con referencia a la pupila. La medida exacta en mm se realiza con el programa ImageJ.	Valores < 0,16 mm se relacionan con ADDE.
LLP-G	Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) para iluminación acoplado a lámpara de Hendidura SL-D4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) y cámara DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) para visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 16 x y la iluminación más brillante proporcionada por el Tearscope. Se realizó un video del LLP cuando estaba totalmente expandido tras cada parpadeo.	Categorización del LLP de menor a mayor grosor, siguiendo el esquema de Guillon: - Marmóreo Abierto - Marmóreo Cerrado - Fluido - Amorfo - Coloreado

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

LLP-C	Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) para iluminación acoplado a lámpara de Hendidura SL-D4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) y cámara DC-4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) para visualización.	En la lámpara de hendidura con un aumento de 16 x y la iluminación más brillante proporcionada por el Tearscope. Se realizó un video del LLP cuando estaba totalmente expandido tras cada parpadeo.	Categorización del LP de menor a mayor grosor, siguiendo el esquema de características de color: - Gris - Blanco - Amarillo - Marrón o superior
MGLA	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	El dispositivo se utiliza en su función "Meibografía". Se realiza la eversión del párpado inferior y con la cámara de propio dispositivo se captura las imágenes del tarso inferior. Las imágenes se analizan empleando el software ImageJ, midiendo el área total del tarso y el área de las MG. La diferencia de estas áreas será el MGLA expresado en %.	Categorización de MGLA siguiendo la escala propuesta por Pult et al.: - Grado 1: MGLA < 25% - Grado 2: MGLA 25-50% - Grado 3: MGLA 50-75% - Grado 4: MGLA > 75%
TFBUT	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de video durante el TFBUT. -Los videos obtenidos son analizados con el programa VirtualDub, convirtiendo los fotogramas de estos en segundos (8 fotogramas = 1 segundo).	Valores < 10 segundos se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
Tinción corneal	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de un video de todas las posiciones de mirada.	Gradación de las tinciones siguiendo el esquema de Oxford: - Grado 0: Ausente - Grado 1: Mínima - Grado 2: Media - Grado3: Moderada - Grado 4: Marcada - Grado 5: Severa

Las pruebas fueron realizadas y registradas por el mismo examinador en una única sesión para evitar de esta manera la posible variabilidad entre observadores y/o sesiones, una vez realizadas fueron analizadas por un segundo observador enmascarado.[17] Todo el protocolo del estudio se realizó en condiciones ambientales controladas de luz, temperatura (20-23ºC) y humedad (50-60%).

5.2.1.4 Análisis estadístico

El análisis de normalidad mostró que el TMH-Tc seguía una distribución normal (Kolmogórov-Smirnov, $p > 0,05$), mientras que OSDI, MGLA, TFBUT, tinción corneal y tanto LLP-G como LLP-C no seguían una distribución normal (Kolmogórov-Smirnov, todos $p < 0,05$).[188, 196] Debido a esto, el cálculo de diferencias en los valores de los parámetros entre los subgrupos de DED se realizó análisis ANOVA, junto con el *post-hoc* de Bonferroni para los análisis por pares, en los parámetros que eran paramétricos. Mientras que se realizó el test de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Kruskall-Wallis, junto con el test de Wilcoxon y la corrección de Bonferroni, en los análisis por pares para los parámetros que no seguían una distribución normal.[189, 193]

En un primer análisis se calculó el valor de corte tanto de LLP-G como del LLP-C para diferenciar entre participantes con diferentes tipos de DED, utilizando el análisis de la curva ROC.[134, 194, 195] Para ello, se empleó el índice de Youden, representando la sensibilidad en función de (1-especificidad), y se evaluó el poder discriminatorio del modelo predictivo mediante el valor del AUC ± DE, junto con sus respectivos IC. En un segundo análisis se utilizó la validación cruzada con un muestreo aleatorio del 80% de los datos para confirmar el punto de corte tanto de LLP-G como de LLP-C. Para ello, se transformó esta variable en dicotómica y se evaluó su asociación con el diagnóstico inicial del TFOS DEWS II mediante la V de Cramer.

5.2.2 Resultados del estudio

Los estadísticos descriptivos de los parámetros analizados en los 240 participantes que conformaron la muestra total se describen en la Tabla 10, mientras que en la Tabla 11 se muestran para todas las medidas en cada grupo. Estos estadísticos se proporcionaron con la media y DE para los parámetros que seguían una distribución normal mientras que para los parámetros que no seguían una distribución normal se proporcionó la mediana y el IQR, además de los valores de mínimo y máximo. El análisis mostró que no existían diferencias estadísticas generales en la osmolaridad, TFBUT, tinción corneal, LLP-G o distribución LLP-C entre el subtipo de DED (todos $p \geq 0,059$), mientras que sí se encontraron diferencias estadísticas en los valores de edad, OSDI, TMH y MGLA (todos $p \leq 0,001$) (Tabla 11).

Tabla 10 - Estadísticos descriptivos de la muestra total del presente estudio (n=240). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Break-Up Time). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme. LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos.

		Edad (Años)*	OSDI (Puntuación)**	Osmolaridad (mOsm/l)*	TFBUT (s)**	Tinción Corneal (Escala Oxford)**	TMH-Tc (mm)*	MGLA**	LLP-G**	LLP-C**
Muestra total	Media/ Mediana	48,3	26,04	322,38	5,27	1,00	0,186	53,92	Marmóreo Cerrado	Gris/Blanco
	DE/IQR	16,52	20,12 – 37,50	18,55	3,43 – 8,15	0,00- 2,00	0,098	41,48-59,67	Marmóreo Abierto/ Marmóreo Cerrado – Fluido	Gris/Blanco – Blanco
	Mínimo	19,0	13,36	282,00	1,29	0,00	0,060	10,24	Marmóreo Abierto	Gris
	Máximo	81,0	83,33	400,00	65,13	4,00	0,640	82,22	Coloreado	Marrón o superior

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 11 - Estadísticos descriptivos de los diferentes grupos del presente estudio; ADDE (n=91), EDE (n=103) y MDE(n=46). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Break-Up Time). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo la Escala de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo la Escala de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos. † Test de Kruskall-Wallis. ‡ Test ANOVA para muestras repetidas.

		Edad (Años)*	OSDI (Puntuación)**	Osmolaridad (mOsm/l)*	TFBUT (s)**	Tinción Corneal (Escala Oxford)**	TMH-Tc (mm)*	MGLA**	LLP-G**	LLP-C**
ADDE	Media/ Mediana	44,54	25,00	321,47	5,29	1,00	0,128	38,47	Marmóreo Cerrado	Gris/Blanco
	DE/IQR	17,3	18,75- 34,09	17,60	3,42 - 8,85	0,00 – 2,00	0,021	28,22 – 43,51	Marmóreo Abierto/Marmóreo Cerrado - Fluido/Amorfo	Gris/Blanco - Blanco/Amarillo
	Mínimo	19,0	13,36	292,00	1,33	0,00	0,080	10,24	Marmóreo Abierto	Gris
	Máximo	71,0	81,25	400,00	21,83	4,00	0,160	48,78	Coloreado	Marrón o superior
EDE	Media/ Mediana	52,7	25,0	322,56	4,79	1,00	0,260	57,02	Marmóreo Cerrado	Gris/Blanco
	DE/IQR	15,5	20,0 -36,36	19,65	3,38 - 7,38	0,00 – 2,00	0,110	54,18 -62,90	Marmóreo Cerrado -Fluido	Gris/Blanco – Blanco
	Mínimo	20,0	13,36	282,00	1,29	0,00	0,160	50,38	Marmóreo Abierto	Gris
	Máximo	81,0	83,33	400,00	65,13	4,00	0,640	79,56	Coloreado	Marrón o superior
MDE	Media/ Mediana	46,0	35,42	323,78	5,77	1,00	0,129	59,16	Marmóreo Cerrado	Gris/Blanco
	DE/IQR	15,1	24,43 -43,23	18,15	4,02 - 9,67	0,00 – 2,00	0,022	55,70 -65,01	Marmóreo Abierto – Marmóreo Cerrado	Gris – Blanco
	Mínimo	20,0	13,50	284,00	1,75	0,00	0,060	50,38	Marmóreo Abierto	Gris
	Máximo	70,0	75,00	373,00	23,13	4,00	0,160	82,22	Amorfo	Amarillo/ Marrón o superior
	p	0,001‡	0,001†	0,784‡	0,190†	0,655†	<0,001‡	<0,001†	0,066†	0,059†

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.2.2.1 Análisis de los valores del LLP-G y LLP-C como criterio de corte para diferenciar entre participantes con ADDE y con EDE

El análisis por pares mostró que no había diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos de ADDE y EDE en la puntuación del test OSDI, osmolaridad, TFBUT, tinción corneal, LLP-G ni LLP-C (todos $p \geq 0,376$), mientras que, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de edad, TMH-Tc y MGLA (todos $p \leq 0,002$) (Tabla 11).

El análisis ROC mostró que tanto medida del LLP-G como del LLP-C no poseen capacidad diagnóstica para distinguir entre los participantes con ADDE y EDE, obteniéndose un AUC ± SD = 0,515 ± 0,042 (p = 0,724, IC del 95% = 0,433-0,597) y AUC = 0,509 ± 0,042 (p = 0,832, IC del 95% = 0,427-0,591) respectivamente (Figura 38).

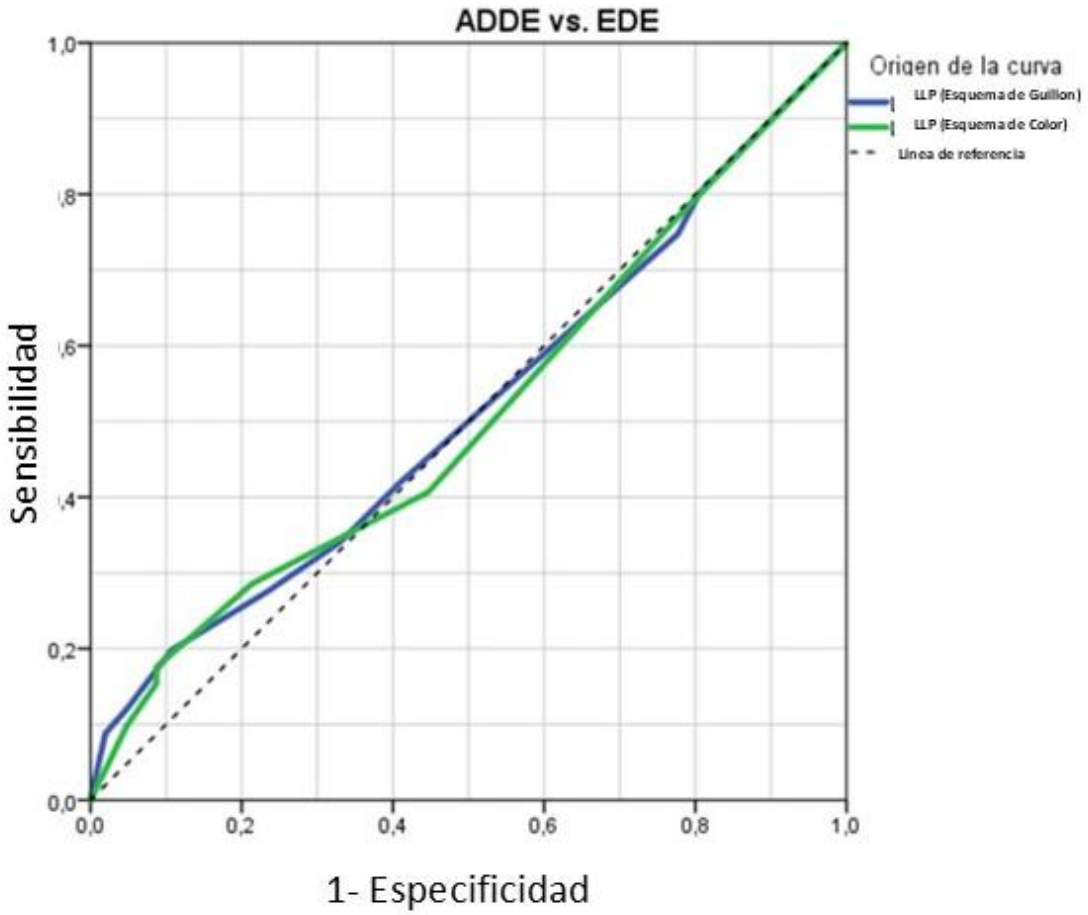


Figura 38 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a EDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.2.2.2 Análisis de los valores del LLP-G y LLP-C como criterio de corte para diferenciar entre participantes con ADDE y MDE

El análisis por pares mostró que no había diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución entre los grupos de los participantes con EDE y con MDE para los valores de edad, osmolaridad, TFBUT, tinción corneal o TMH-Tc (todos $p \geq 0,062$), mientras que, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de OSDI, MGLA, LLP-G y LLP-C (Tabla 11).

El análisis ROC mostró que tanto la medida del LLP-G como del LLP-C poseen potencial diagnóstico para diferenciar entre los subtipos de participantes con ADDE y MDE, obteniéndose un AUC ± SD = 0,609 ± 0,049 (p = 0,038, IC del 95% = 0,513-0,705) y AUC ± SD = 0,611 ± 0,050 (p = 0,034, IC del 95% = 0,513-0,709) respectivamente (Figura 39). A partir del cálculo del índice de Youden para el LLP-G (estadístico J de Youden = 0,179) o para el LLP-C (estadístico J de Youden = 0,146), se identificó un valor de corte de Marmóreo Cerrado-Fluido (sensibilidad: 23,9%; especificidad: 76,1%) y un valor de corte de Gris-Blanco (sensibilidad: 40,7%; especificidad: 73,9%) respectivamente para discriminar entre participantes con ADDE y con MDE. Al igual que en el Estudio 1 se realizó el análisis de validación cruzada que incluyó una muestra aleatoria del 80%. Se observó una asociación entre ambos valores de corte del LLP-G y LLP-C calculados y los criterios diagnósticos previamente propuestos por el TFOS DEWS II para distinguir entre participantes con ADDE y EDE (ambos, V de Cramer $\geq 0,175$, $p \leq 0,041$).

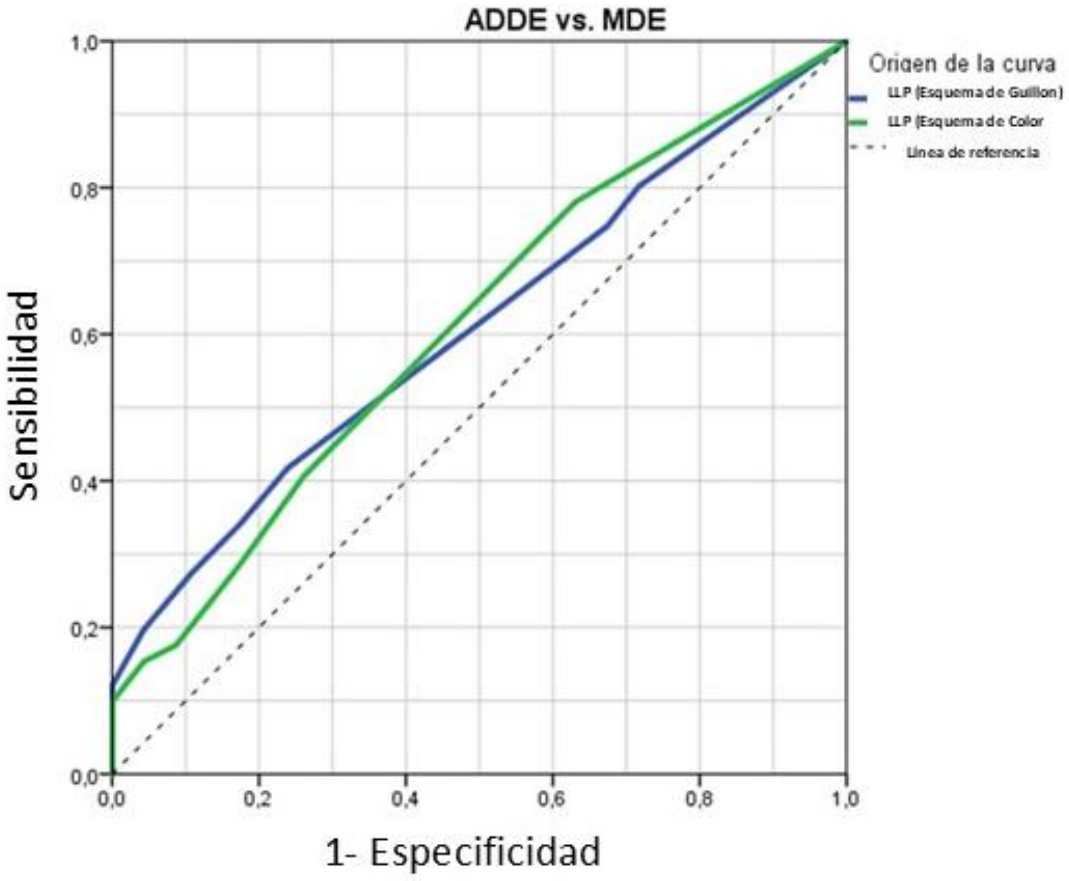


Figura 39 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a MDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color

(Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic)

5.2.2.3 Análisis de os valores del LLP-G y LLP-C como criterio de corte para diferenciar entre participantes con EDE y MDE

El análisis por pares mostró que no había diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución entre los grupos de los participantes con EDE y con MDE para los valores de edad, osmolaridad, TFBUT, tinción corneal y MGLA (todos $p \geq 0,757$); mientras que, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de OSDI, TMH-Tc, LLP-G y LLP-C (todos $p < 0,036$) (Tabla 11).

El análisis ROC mostró que tanto la medida del LLP-G como del LLP-C poseen potencial diagnóstico para diferenciar entre los subtipos de participantes con EDE y MDE, obteniéndose un AUC ± SD = 0,604 ± 0,049 (p = 0,043, IC del 95% = 0,508-0,700) y AUC ± SD = 0,604 ± 0,051 (p = 0,038, IC del 95% = 0,504-0,704) respectivamente (Figura 40). A partir del cálculo del índice de Youden para el LLP-G (estadístico J de Youden = 0,169) o para el LLP-C (estadístico J de Youden = 0,617), se identificó un valor de corte de Marmóreo Cerrado (sensibilidad: 40,8%; especificidad: 76,1%) y un valor de corte de Gris-Blanco (sensibilidad: 44,7%; especificidad: 73,9%) respectivamente para discriminar entre participantes con EDE y MDE. El análisis de validación cruzada también fue realizado incluyendo una muestra aleatoria del 80%, se observó una asociación sólida entre ambos valores de corte del LLP-G y LLP-C calculados y los criterios diagnósticos propuestos por el TFOSDEWS II para distinguir entre participantes con EDE y con MDE (ambos, V de Cramer $\geq 0,202$, $p \leq 0,021$).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

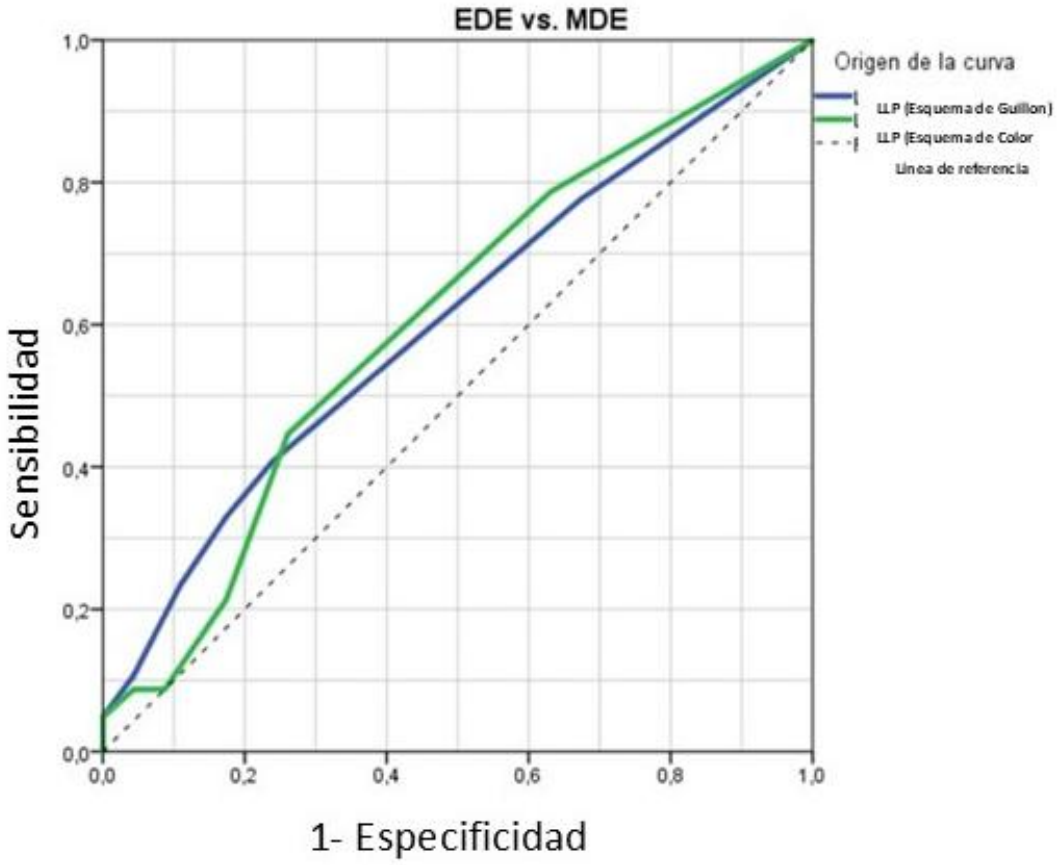


Figura 40 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (EDE frente a MDE). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic).

5.3 ESTUDIO 3 – ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LA VARIACIÓN EN EL ESTATUS Y EN LA ESTABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES CON OJO SECO SIN TRATAR

5.3.1 Protocolo del estudio

Este estudio buscaba cumplir el objetivo secundario 3 "Analizar la variación del estado del diagnóstico de DED según los criterios del TFOS DEWS II en participantes no tratados a lo largo de 4, 6 y 8 años desde su diagnóstico". Para ello, se realizó un diseño de estudio longitudinal observacional, en el que fueron reclutados sujetos que acudieron con un diagnóstico previo de DED al Servicio de Optometría de la USC para la realización de una segunda revisión ocular.

A continuación, se describirá el protocolo seguido para la realización de este estudio, el cual se corresponde con la publicación: Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease. *The ocular surface* 2023; 29**:** 298-300.

5.3.1.1 Características de la muestra y criterios de inclusión y exclusión

En este estudio se contactó con un total de 105 participantes voluntarios que habían acudido previamente al Servicio de Optometría de la USC para un primer examen ocular entre los años 2013 y 2017. A estos participantes se les ofreció la realización de un segundo examen ocular. Todos los participantes De todos ellos acudieron un total de 72 participantes con una edad media ± DE de 49,69 ± 10,03 años. Todos estos participantes habían sido remitidos al primer examen visual por el personal médico del SVS de la USC con un diagnóstico de DED.[17] Además, los participantes cumplían los siguientes criterios de inclusión y exclusión generales:

- Ser mayor de 18 años.
- No estar tomando ningún tipo de medicación, ni usando ningún tipo de lágrimas artificiales.
- No tener una historia previa personal o familiar de oculares.
- No haberse sometido a ninguna cirugía ocular.
- No presentar infecciones oculares.
- No presentar ni padecer: glaucoma, enfermedades sistémicas, enfermedades de tipo autoinmune o diabetes mellitus.
- No estar embarazada o en periodo de lactancia.
- No portar lentes de contacto.

5.3.1.2 Diseño

Previamente al reclutamiento de participantes y a su clasificación se realizó el cálculo del tamaño de muestra para cada grupo basándose en principio del informe de metodología del TFOS DEWS II, y usándose el software PS Power and Sample Size Calculations Version 3.1.2 (Copyright© de William D. Dupont y Walton D. Plummer). Se asumió que las DE descritas en la literatura sobre el estado sintomatológico (puntuación en el cuestionario OSDI), la osmolaridad de la película lagrimal, el TFBUT y la tinción con fluoresceína eran de 6,7 puntos, 4,8 mOsm/l, 2,9 segundos y 2 respectivamente.[17, 159, 173, 183, 198] Se seleccionó el más alto de estos valores como referencia para determinar el tamaño de la muestra (12 participantes) con el fin de garantizar un estudio más sólido. Para garantizar que este tamaño mínimo de la muestra se mantuviera en cada uno de los grupos de reclutamiento final, un ajuste de un 70% de pérdidas de seguimiento anticipada condujo a un tamaño de muestra total de 40 participantes para cada grupo durante el reclutamiento inicial.

Un total de 105 participantes fueron reclutados para este estudio, todos ellos remitidos por el personal médico del SVS de la USC con un diagnóstico inicial de DED, y confirmados siguiendo los criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II durante un examen en el Servicio de Optometría de la USC.[17, 37] Este primer examen fue realizado durante los años 2013 a 2017. Aquellos participantes en las primeras fases de la enfermedad (DED leve a moderada), recibieron una serie de recomendaciones visuales y ergonómicas, así como un protocolo de uso de sustitutivos lagrimales. Los pacientes con DED grave fueron remitidos a sus médicos especialistas.

Posteriormente, todos los participantes potenciales (aquellos que cumplían con los criterios de inclusión) fueron contactados para un segundo examen ocular en el Servicio de Optometría. Este segundo examen se realizó de forma voluntaria entre 2021 y 2023. Durante este proceso, se les preguntó si habían seguido las recomendaciones iniciales. Aunque la mayoría indicó que

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

sí lo habían hecho, algunos reconocieron no haberlas seguido. Los pacientes que no siguieron las recomendaciones fueron incluidos en el presente estudio.

Los participantes seleccionados fueron contactados por el centro para someterse de forma voluntaria a un segundo examen ocular, programado tras un periodo específico desde la revisión inicial. La muestra total se distribuyó en tres grupos según el tiempo transcurrido:

- Grupo 1: aquellos participantes a los cuales se les ofreció una segunda revisión ocular tras 4 años desde la revisión inicial, siendo estos un total de 26 participantes.
- Grupo 2: aquellos participantes a los cuales se les ofreció una segunda revisión ocular tras 6 años desde la revisión inicial, siendo estos un total de 15 participantes.
- Grupo 3: aquellos participantes a los cuales se les ofreció una segunda revisión ocular tras 8 años desde la revisión inicial, siendo estos un total de 31 participantes.

5.3.1.3 Procedimientos

El presente estudio se realizó se llevó a cabo en dos sesiones distribuidas en tres periodos de tiempo distintos posteriores a la revisión inicial: a los 4, a los 6 y a los 8 años. En cada una de las sesiones se realizó el protocolo donde cada una de las pruebas clínicas siguió la forma descrita en el apartado de "Material y método". Estas fueron realizadas siempre en el mismo orden, de menor a mayor invasividad, siendo: cuestionario de sintomatología OSDI, osmolaridad de la película lagrimal, TFBUT y tinciones corneales. La selección de estas pruebas se realizó en base a los criterios diagnósticos proporcionaos por la TFOS DEWS.[17] En la Tabla 12 se describen las pruebas realizadas de forma más detallada y los parámetros analizados en cada una de ellas. Partiendo de la hipótesis de que la gravedad debe evaluarse de forma independiente entre ojos, o incluso esta diferencia entre ojos puede emplearse como indicador diagnóstico, en este estudio fueron evaluados tanto ojo derecho como ojo izquierdo.[39, 41, 199]

Tabla 12 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).

Parámetro	Material	Método	Categorización
Sintomatología de sequedad ocular	Cuestionario de sintomatología OSDI.	Cumplimentación del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".	4 categorías de gravedad: - Normal [0- 13) - Medio [13 – 22) - Moderado [22 -32) - Severo [32 – 100)
Osmolaridad de la película lagrimal	Osmómetro TearLab.	Toma de lagrima con el dispositivo según el método descrito por el fabricante.	Valores > 308 mOsm/l se relacionan con una alteración de la superficie ocular.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TFBUT	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de video durante el TFBUT. -Los videos obtenidos son analizados con el programa VirtualDub, convirtiendo los fotogramas de estos en segundos (8 fotogramas = 1 segundo).	Valores < 10 segundos se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
Tinción corneal	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de un video de todas las posiciones de mirada.	Gradación de las tinciones siguiendo el esquema de Oxford: - Grado 0: Ausente - Grado 1: Mínima - Grado 2: Media - Grado3: Moderada - Grado 4: Marcada - Grado 5: Severa

Las pruebas fueron realizadas y registradas por el mismo examinador en una única sesión para evitar de esta manera la posible variabilidad entre observadores y/o sesiones, una vez realizadas fueron analizadas por un segundo observador enmascarado.[143] Todo el protocolo del estudio se realizó en condiciones ambientales controladas de luz, temperatura (20-23ºC) y humedad (50-60%).

Una vez obtenidos los resultados y previa realización de los análisis estadísticos, en función de la presencia de las diferentes combinaciones de síntomas y signos, los participantes fueron clasificados en 4 posibles diagnósticos siguiendo los criterios de diagnóstico propuestos por el TFOS DEWS II:[17, 37] Ausencia de DED, DED preclínico, Predisposición a DED y DED. Mostrándose en detalle en la Tabla 13. [48, 200]

Tabla 13 - - Criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).

Diagnóstico diferencial	Síntomas	Signos	
Ausencia de DED	Puntuación OSDI < 13	Deben cumplirse todas las condiciones:	- Osmolaridad en un ojo < 308 mOsm/l - Diferencia de osmolaridad entre ojos < 8 mOsm/l - TFBUT ≥ 10 s - Tinción Corneal (Escala de Oxford) < 2 grade
DED Preclínico	Puntuación OSDI ≥ 13		
Predisposición a DED	Puntuación OSDI < 13	Debe cumplirse al menos una de las condiciones siguientes:	- Osmolaridad en un ojo ≥ 308 mOsm/l - Diferencia de osmolaridad entre ojos ≥ 8 mOsm/l - TFBUT < 10 s - Tinción Corneal (Escala de Oxford9 ≥ 2 grade
DED	Puntuación OSDI ≥ 13		

5.3.1.4 Análisis estadístico

Debido a la naturaleza categórica de los datos, se empleó el diseño de tablas cruzadas para comparar los resultados del estatus del diagnóstico presentado por cada paciente. Debido al número de casos presentados en algún punto de cruce, se realizó el test exacto de Fisher para evaluar la posible asociación entre el estatus de la enfermedad en el diagnóstico inicial.[188] Seguidamente se empleó la V de Cramer para analizar la correlación entre los diagnósticos

iniciales y finales. Por último, se empleó test de Wilcoxon para realizar el análisis de diferencias entre el diagnóstico del primer examen ocular y el segundo.[188]

5.3.2 Resultados del estudio

La muestra total fue analizada encontrándose una asociación estadísticamente significativa entre la clasificación del estatus del diagnóstico entre ambos exámenes oculares siendo cada uno considerado como visitas (test de Fisher, p = 0,005), y una correlación entre el diagnóstico inicial (visita 1) y el final (visita 2) (V de Cramer = 0,322; p = 0,008). No obstante, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estado del diagnóstico entre ambas visitas (test de Wilcoxon, p = 0,442)

5.3.2.1 Análisis de la variación en el estatus y la estabilidad del diagnóstico de DED tras 4 años sin tratar

Los estadísticos descriptivos mostraron que en el Grupo 1, tanto el subgrupo de Ausencia de DED como el subgrupo de DED el número de casos son prácticamente estables entre las visitas, siendo un 3,8% en las visitas 1 y 2, y un 69,2% en la visita 1 frente 57,7% en la visita 2 respectivamente para ambos subgrupos. Por otro lado, los casos de DED preclínico disminuyen de un 7,7% en la visita 1 a un 3,8% en la visita 2 y los casos de Predisposición a DED aumentan de un 19,5% en la visita 1 a un 34,6% en la visita 2. Sin embargo, no se encontró asociación entre el estatus de clasificación entre ambas visitas (Test de Fisher, p = 0,557) y tampoco se encontró ninguna correlación entre el diagnóstico inicial (visita 1) y el final (visita 2) (V de Cramer, p = 0,213). En cambio, el análisis de diferencias mostró que no existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la variación del estatus del diagnóstico entre visitas (test de Wilcoxon, p = 0,783) (Tabla 14).

Tabla 14 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 1 (seguimiento del grupo durante 4 años). n = 26. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease).

		Visita 2						
		Ausencia de DED	DED Preclínico	Predisposición a DED	DED	Total (Diagnóstico inicial)	Sin variación	Variación
Visita 1	Ausencia de DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)
	DED Preclínico	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (50,0%)	1 (50,0%)	2 (7,7%)	0 (0,0%)	2 (100,0%)
	Predisposición a DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)	5 (19,2%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)
	DED	1 (5,6%)	1 (5,6%)	4 (22,2%)	12 (66,7%)	18 (69,2%)	12 (66,7%)	6 (33,3%)
	Total (Diagnóstico final)	1 (3,8%)	1 (3,8%)	9 (34,6%)	15 (57,7%)		15 (57,7%)	11 (42,3%)

5.3.2.2 Análisis de a variación en el estatus y la estabilidad del diagnóstico de DED tras 6 años sin tratar

Los estadísticos descriptivos mostraron que en el Grupo 2, tanto en el subgrupo de Ausencia de DED como en el subgrupo de DED el número de casos era prácticamente estable entre visitas, siendo un 0% en las visitas 1 y 2, y un 73,3% en las visitas 1 y 2 respectivamente

para ambos subgrupos. Por otro lado, los casos de DED preclínico aumentaron de un 6,7% en la visita 1 a un 13,3% en la visita 2; en los casos de Predisposición a DED disminuyeron de un 20,0% en la visita 1 a un 13,3% en la visita 2. Sin embargo, no se encontró asociación entre estatus de clasificación entre ambas visitas (Test de Fisher, p = 0,114) y tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estatus del diagnóstico entre las visitas (Test de Wilcoxon, p = 0,739). En cambio, sí se encontró una correlación entre el diagnóstico inicial (visita 1) y el final (visita 2) (V de Cramer = 0,565; p = 0,048) (Tabla 15).

Tabla 15 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 2 (seguimiento del grupo durante 6 años). n = 15. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease).

		Visita 2						
		Ausencia de DED	DED Preclínico	Predisposición a DED	DED	Total (Diagnóstico inicial)	Sin variación	Variación
Visita 1	Ausencia de DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	-
	DED Preclínico	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)	1 (6,7%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)
	Predisposición a DED	0 (0,0%)	2 (66,7%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)	3 (20,0%)	0 (0,0%)	3 (100,0%)
	DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (18,2%)	9 (81,8%)	11 (73,3%)	9 (81,8%)	2 (18,2%)
	Total (Diagnóstico final)	0 (0,0%)	2 (13,3%)	2 (13,3%)	11 (73,3%)		9 (60,0%)	6 (40,0%)

5.3.2.3 Análisis de la variación en el estatus y la estabilidad del diagnóstico de DED tras 8 años sin tratar

Los estadísticos descriptivos muestran que en el Grupo 3, el número de casos en todos los estados de la enfermedad permanecen casi estables entre la visita 1 y la visita 2 (Tabla 16). Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la clasificación del estado del diagnóstico de DED entre visitas (Test de Fisher, p < 0,001) y una correlación entre el diagnóstico inicial (visita 1) y el final (visita 2) (V de Cramer = 0,819, p < 0,001). Sin embargo, no se h encontraron diferencias estadísticamente significativas en este estatus entre las visitas (test de Wilcoxon, p =0,317).

Tabla 16 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 3 (seguimiento del grupo durante 8 años). n = 31. DED: Dry Eye Disease.

		Visita 2						
		Ausencia de DED	DED Preclínico	Predisposición a DED	DED	Total (Diagnóstico inicial)	Sin variación	Variación
Visita 1	Ausencia de DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	-
	DED Preclínico	1 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,2%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)
	Predisposición a DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (66,7%)	2 (33,3%)	6 (19,4%)	4 (66,7%)	2 (33,3%)
	DED	0 (0,0%)	1 (4,2%)	2 (8,3%)	21 (87,5%)	24 (77,4%)	21 (87,5%)	3 (12,5%)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

	Total (Diagnóstico final)	1 (3,2%)	1 (3,2%)	6 (19,4%)	23 (74,2%)		25 (80,6%)	6 (19,4%)

5.3.2.4 Análisis de la variación en el estatus y la estabilidad del diagnóstico de DED de la muestra total de participantes.

Los estadísticos descriptivos una vez analizada la muestra total muestran una asociación significativa entre la clasificación del estado entre la visita 1 y la visita 2 (prueba de Fisher, p = 0,005), y una correlación entre el diagnóstico inicial (Visita 1) y el final (Visita 2) (V de Cramer = 0,322, p = 0,008) (Tabla 17). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el estado entre las visitas (test de Wilcoxon, p = 0,442).

Tabla 17 - Tabla cruzada del del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y la segunda visita para toda la muestra reclutada. n = 72. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease).

		Visita 2						
		Ausencia de DED	DED Preclínico	Predisposición a DED	DED	Total (Diagnóstico inicial)	Sin variación	Variación
Visita 1	Ausencia de DED	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1 (1,4%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)
	DED Preclínico	1 (25,0%)	0 (0,0%)	1 (25,0%)	2 (50,0%)	4 (5,6%)	0 (0,0%)	4 (100,0%)
	Predisposición a DED	0 (0.0%)	2 (14,3%)	7 (50,0%)	5 (35,7%)	14 (19,4%)	7 (50,0%)	7 (50,0%)
	DED	4 (1,9%)	2 (3,8%)	8 (15,1%)	42 (79,2%)	53 (73,6%)	42 (79,2%)	11 (20,8%)
	Total (Diagnóstico final)	2 (2,8%)	4 (5,6%)	17 (23,6%)	49 (68,1%)		49 (68,1%)	23 (31,9%)

5.4 ESTUDIO 4 – ESTUDIO A LARGO PLAZO DE LOS CAMBIOS EN SÍNTOMAS Y SIGNOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO EN PACIENTES SIN TRATAR

5.4.1 Protocolo del estudio

Este estudio buscaba cumplir el objetivo secundario 4 “Analizar los cambios en síntomas y signos diagnósticos según los criterios del TFOS DEWS II en pacientes con DED no tratados tras 4, 6 y 8 años desde su diagnóstico”. Para ello, se realizó un de estudio observacional prospectivo, en el que fueron reclutados sujetos que acudieron con un diagnóstico previo de DED al Servicio de Optometría de la USC para la realización de una segunda revisión ocular. A continuación, se describirá el protocolo seguido para la realización de este estudio, el cual se corresponde con la publicación.

5.4.1.1 Características de la muestra y criterios de inclusión exclusión

En este estudio se contactó de forma aleatoria con 120 participantes voluntarios, que ya habían acudido al Servicio de Optometría de la USC para un examen ocular previamente, para la realización de un segundo examen ocular. Del total de los contactados, acudieron 67 participantes con una edad media ± DE de 49,87 ± 10,17 años.

La totalidad de los participantes habían sido remitidos en su primera visita por el personal médico del SVS de la USC con un posible diagnóstico compatible con DED. Este diagnóstico

USC UNIVERSIDADE DE COMPOSTELA

fue confirmado en esta visita siguiendo los criterios diagnósticos proporcionados por el TFOS DEWS II. Los valores de corte para determinar la compatibilidad con la DED en las diferentes pruebas diagnósticas son los siguientes: en relación con la sintomatología, se consideró una compatibilidad si se obtiene una puntuación en el test de sintomatología OSDI ≥ 13 puntos; en cuanto a los signos, se estableció compatibilidad si se presentaba una osmolaridad lagrimal ≥ 308 mOsm/l, un TFBUT < 10 segundos y/o un grado de tinción corneal ≥ 2 (siguiendo el esquema de Oxford). Además, los participantes cumplían los siguientes criterios de inclusión y exclusión generales:

- Ser mayor de 18 años.
- No estar tomando ningún tipo de medicación, ni usando ningún tipo de lágrimas artificiales.
- No tener una historia previa personal o familiar de oculares.
- No haberse sometido a ninguna cirugía ocular.
- No presentar infecciones oculares.
- No presentar ni padecer: glaucoma, enfermedades sistémicas, enfermedades de tipo autoinmune o diabetes mellitus.
- No estar embarazada o en periodo de lactancia.
- No portar lentes de contacto.

5.4.1.2 Diseño

Previo al proceso de reclutamiento de los participantes de este estudio, se llevó a cabo el cálculo del tamaño de muestra para cada grupo. El tamaño de muestra se calculó basándose en principio del informe de metodología del TFOS DEWS II usándose el software Power and Sample Size Calculations Version 3.1.2 (Copyright© de William D. Dupont y Walton D. Plummer). Se asumió que las DE descritas en la literatura sobre el estado sintomatológico (puntuación en el cuestionario OSDI), la osmolaridad de la película lagrimal, el TFBUT y la tinción con fluoresceína eran de 6,7 puntos, 4,8 mOsm/l, 2,9 segundos y 2 respectivamente.[17, 159, 173, 183, 198] Se seleccionó el más alto de esos valores como referencia para determinar el tamaño de la muestra (12 participantes) con el fin de garantizar un estudio más sólido. Para garantizar que este tamaño mínimo de la muestra se mantuviera en cada uno de los grupos de reclutamiento final, un ajuste de un 70% de pérdidas de seguimiento anticipadas condujo a un tamaño total de la muestra de 40 para cada grupo durante el reclutamiento inicial[17, 159, 173, 183, 198]

Un total de 120 pacientes fueron reclutados para este estudio, todos ellos remitidos por el personal médico del SVS de la USC con un diagnóstico inicial de DED, y confirmados siguiendo los criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II durante un examen en el Servicio de Optometría de la USC.[17, 37] Este primer examen fue realizado durante los años 2013 a 2017. Aquellos participantes en las primeras fases de la enfermedad (DED leve a moderada), recibieron una serie de recomendaciones visuales y ergonómicas, así como un protocolo de uso de sustitutivos lagrimales. Los pacientes con DED grave fueron remitidos a sus médicos especialistas.

Posteriormente, todos los participantes potenciales (aquellos que cumplían con los criterios de inclusión) fueron contactados para un segundo examen ocular en el Servicio de Optometría. Este segundo examen se realizó de forma voluntaria entre 2021 y 2023. Durante este proceso, se les preguntó si habían seguido las recomendaciones iniciales. Aunque la mayoría indicó que

sí lo habían hecho, algunos reconocieron no haberlas seguido. Los pacientes que no siguieron las recomendaciones fueron incluidos en el presente estudio.

Los participantes seleccionados fueron contactados por el centro para someterse de forma voluntaria a un segundo examen ocular, programado tras un periodo específico desde la revisión inicial. La muestra total se distribuyó en tres grupos, según el tiempo transcurrido:

- Grupo 1: compuesto por aquellos participantes a los cuales se les fijó una segunda revisión ocular tras 4 años desde la revisión inicial, siendo un total de 25 participantes.
- Grupo 2: compuesto por aquellos participantes a los cuales se les fijo una segunda revisión ocular tras 6 años desde la revisión inicial, siendo un total de 14 participantes.
- Grupo 3: compuesto por aquellos participantes a los cuales se les fijo una segunda revisión ocular tras 8 años desde la revisión inicial, siendo un total de 28 participantes.

5.4.1.3 Procedimientos

El presente estudio se llevó a cabo en dos sesiones distribuidas en tres periodos de tiempo distintos y posteriores a la revisión inicial: a los 4, a los 6 y a los 8 años. En cada una de las sesiones se realizó el protocolo donde cada una de las pruebas clínicas siguió la forma descrita en el apartado de "Material y método". Estas fueron realizadas siempre en el mismo orden, de menor a mayor invasividad, siendo: la puntuación de sintomatología mediante el cuestionario OSDI, la osmolaridad de la película lagrimal, la osmolaridad entre ojos u osmolaridad |OD-OS|, el TFBUT, el MBI y las tinciones corneales. En la Tabla 18 se describen las pruebas realizadas de forma más detallada y los parámetros que analiza cada una de ellas.

Tabla 18 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). MBI: Máximo Intervalo de parpadeo (Maximum Blink Interval).

Parámetro	Material	Método	Categorización
Sintomatología de sequedad ocular	Cuestionario de sintomatología OSDI.	Cumplimentación del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".	4 categorías de gravedad: - Normal [0- 13) - Medio [13 – 22) - Moderado [22 -32) - Severo [32 – 100)
Osmolaridad de la película lagrimal	Osmómetro TearLab.	Toma de lagrima con el dispositivo según el método descrito por el fabricante.	Valores > 308 mOsm/l se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
Osmolaridad |OD-OI|	Osmómetro TearLab.	Toma de lagrima con el dispositivo según el método descrito por el fabricante. Para calcularlo se realiza el cálculo de la diferencia absoluta de os valores obtenidos para el OD para el OI.	Valores de Osmolaridad |OD-OI| > 8 mOsm/l se relacionan con una alteración de la superficie ocular.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TFBUT	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de video durante el TFBUT. -Los videos obtenidos son analizados con el programa VirtualDub, convirtiendo los fotogramas de estos en segundos (8 fotogramas = 1 segundo).	Valores < 10 segundos se relacionan con una alteración de la superficie ocular.
MBI	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de video durante el MBI. -Los videos obtenidos son analizados con el programa VirtualDub, convirtiendo los fotogramas de estos en segundos (8 fotogramas = 1 segundo).	-
Tinción corneal	OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).	-Instilación de fluoresceína en la conjuntiva bulbar inferior. -Se emplea la iluminación de diodos azules del dispositivo. -Se realiza la grabación de un video de todas las posiciones de mirada.	Gradación de las tinciones siguiendo el esquema de Oxford: - Grado 0: Ausente - Grado 1: Mínima - Grado 2: Media - Grado3: Moderada - Grado 4: Marcada - Grado 5: Severa

La totalidad de las pruebas fueron realizadas y registradas por el mismo examinador en una única sesión para evitar de esta manera la posible variabilidad entre observadores y/o sesiones, una vez realizadas fueron analizadas por un segundo observador enmascarado. Todo el protocolo del estudio se realizó en condiciones ambientales controladas de luz, temperatura (20-23ºC) y humedad (50-60%).

5.4.1.4 Análisis estadístico

Según el diseño del estudio, los participantes se agruparon en función del momento en que se programó el segundo examen; por lo tanto, los análisis estadísticos se realizaron en función de esos grupos. Los análisis estadísticos realizados sobre los parámetros oculares se evaluaron incluyendo ambos ojos de cada participante.[188] La diferencia entre ojos de la osmolaridad empleada para el análisis se calculó como la diferencia absoluta entre los valores obtenidos de ambos ojos de los participantes (|OD-OS|), denominándose osmolaridad|OD-OS|.[39, 41]

Debido a los diferentes tamaños muestrales de cada grupo, se comprobó la normalidad de los datos con el test de Kolmogórov-Smirnov (recomendado para $n \geq 50$) o el test de Shapiro-Wilk ($n < 50$). Se supuso que los parámetros ordinales, como la tinción corneal, seguían una distribución no paramétrica. La prueba de Kolmogorov-Smirnov mostró que los datos OSDI de los grupos 1 y 3 seguían una distribución paramétrica ($p > 0,05$); sin embargo, TFBUT y MBI mostraron ser no paramétricos ($p \leq 0,05$). La prueba de Shapiro-Wilk mostró que los datos OSDI del Grupo 2, osmolaridad y osmolaridad|OD-OS| seguían una distribución paramétrica (ambos $p > 0,05$). Las variables no paramétricas como TFBUT y MBI se transformaron a

distribución paramétrica realizando logaritmos para el análisis estadístico; no obstante, los valores de TFBUT y MBI se mostraron en su forma original en las tablas debido a su implicación clínica.

Antes del análisis de las diferencias entre sesiones, se evaluaron las diferencias entre las mediciones en la primera sesión entre los grupos para establecer si existía un sesgo inicial. Las diferencias entre los grupos en la primera sesión se calcularon realizando un ANOVA paramétrico o la prueba exacta de Fisher con tabulación cruzada. Este análisis se realizó para garantizar que las suposiciones realizadas al comparar los grupos no se vieran influidas por distribuciones iniciales disímiles de las características (para mitigar el posible impacto de cualquier diferencia inicial en los análisis posteriores). A continuación, se estudiaron las diferencias entre los valores basales y los de la segunda sesión de todos los parámetros para cada grupo, así como la interacción entre grupos mediante la realización de modelos generales lineales para muestras repetidas. Asimismo, se empleó el *post-hoc* de Tukey para evaluar las diferencias en las mediciones entre sesiones en cada grupo para los valores de OSDI, osmolaridad, osmolaridad|OD-OS|, FBUT y MBI, mientras que para los valores de tinción corneal se utilizó la prueba de Homogeneidad Marginal.[188] Todos los análisis *post-hoc* se ajustaron mediante Bonferroni estableciendo la significación estadística en $p \leq 0{,}017$ debido a la presencia de 3 grupos.[193]

5.4.2 Resultados del estudio

En el análisis inicial de las características entre grupos en la sesión basal, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en las mediciones de OSDI, osmolaridad, osmolaridad|OD-OS|, TFBUT, MBI y tinción corneal (prueba ANOVA o prueba exacta de Fisher; todas $p \geq 0{,}085$). La Tabla 19 muestra los datos demográficos, las estadísticas descriptivas y las diferencias entre grupos para los parámetros medidos en la sesión basal.

Tabla 19 - Datos demográficos, estadísticas descriptivas y análisis de las diferencias entre los grupos en la sesión basal. Datos demográficos, estadísticas descriptivas y análisis de las diferencias entre grupos en la sesión basal. * Estadísticamente significativo (p ≤ 0,05). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Break-Up Time). IQR = Rango Intercuartílico (Interquartile Range). MBI: Intervalo Máximo ente Parpadeos (Maximum Blink Interval). OSDI: Ocular Surface Questionnaire Index; DE: Desviación Estándar. S: segundos.

	Grupo 1 (4 años)	Grupo 2 (6 años)	Grupo 3 (8 años)	p
Sexo (n [% mujeres])	33 [72.7% mujeres]	18 [77.8% mujeres]	37 [83.8% mujeres]	0.604
Edad (años) (Media ± DE)	50.2 ± 10.4	47.4 ± 11.3	49.9 ± 8.8	0.698
Erro temporal entre sesiones (días) (Mediana [IQR])	4 [-26.8 – 5.0]	1 [-15.5 – 6.5]	3 [-8.0 – 10.0]	-
OSDI (Media ± DE)	33.64 ± 14.04	35.37 ± 8.80	32.33 ± 12.62	0.323
Osmolaridad (mOsm/l) (Media ± DE)	322 ± 14	317 ± 14	316 ± 13	0.153
Osmolaridad |OD-OS| (mOsm/l) (Media ± DE)	12 ± 10	14 ± 19	9 ± 9	0.374

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TFBUT (s) (Mediana [IQR])	3.9 [1.8 – 7.4]	9.6 [5.8 – 16]	5.34 [2.8 – 7.7]	0.085
MBI (s) (Mediana [IQR])	7.1 [3.7 – 14.6]	13.8 [9.6 – 21.5]	8.57 [6.4 – 9.9]	0.062
Tinción Corneal (Esquema Oxford)	1 [0 – 1]	0.50 [0 – 2]	0 [0 – 1]	0.341

5.4.2.1 Análisis de los valores de sintomatología entre sesiones

El modelo lineal para muestras repetidas con análisis intersujetos asumió la esfericidad de los datos OSDI (W de Mauchly; $p > 0,05$). No se encontraron diferencias significativas entre sesiones para los valores OSDI independientemente del grupo (Esfericidad asumida; $p = 0,055$); sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas entre sesiones y grupos (Esfericidad asumida; $p < 0,001$). Hubo una diferencia estadísticamente significativa en los valores OSDI entre sesiones en los Grupos 1 y 3 (Prueba t-test para muestras relacionadas; ambas $p \leq 0,001$), mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el Grupo 2 (Prueba t-test para muestras relacionadas; $p = 0,328$). Se realizaron análisis *post-hoc* entre grupos, que mostraron diferencias en los valores OSDI entre el Grupo 2 y los Grupos 1 y 3 (*post-hoc* de Tukey; ambos $p \leq 0,002$). No se obtuvieron diferencias significativas entre el Grupo 1 y el Grupo 3 (*post-hoc* de Tukey; $p = 0,457$).

La Tabla 20 muestra los valores estadísticos descriptivos y el análisis de diferencias en el cuestionario OSDI para los Grupos 1, 2 y 3, respectivamente.

Tabla 20 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre las puntuaciones del test OSDI entre los participantes del Grupo 1 (n = 33), Grupo 2 (n =18) y del Grupo 3 (n = 37). Los valores de p se determinaron mediante el t-test para muestras. * Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). OSDI: Ocular Surface Disease Index. DE: Desviación Estándar

	Grupo 1 (4 años)	Grupo 2 (6 años)	Grupo 3 (8 años)
Sesión basal (Media ± DE)	33.64 ± 14.04	35.37 ± 8.80	32.33 ± 12.62
Segunda Sesión (Media ± DE)	22.05 ± 15.91	38.20 ± 24.37	23.00 ± 10.98
Diferencia Media ± DE	11.59 ± 15.48	-3.13 ± 19.22	9.33 ± 12.41
p	0.001*	0.328	0.001*

5.4.2.2 Análisis de los valores de osmolaridad de la película lagrimal entre sesiones

El modelo lineal para muestras repetidas con análisis intersujetos asumió la esfericidad de los datos de osmolaridad y osmolaridad|OD-OS| (W de Mauchly; $p > 0,05$). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sesiones para los valores de osmolaridad independientemente del grupo (Esfericidad asumida; $p = 0,005$); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre sesiones y grupos (Esfericidad asumida; $p = 0,684$). Se encontraron únicamente diferencias estadísticamente significativas entre sesiones para el Grupo 2 (Prueba t-test para muestras relacionadas; $p \geq 0,048$). Se realizaron análisis *post-hoc* entre grupos, que mostraron diferencias en los valores de osmolaridad entre el Grupo 1 y el

Grupo 3 (*post-hoc* de Tukey; p = 0,022). No se obtuvieron diferencias significativas entre el Grupo 2 y los Grupos 1 y 3 (post hoc de Tukey; ambos p ≥ 0,313).

No se encontraron diferencias significativas entre sesiones para los valores de osmolaridad|OD-OS| independientemente del grupo (Esfericidad asumida; p = 0,468); tampoco se encontraron diferencias entre sesiones y grupos (Esfericidad asumida; p = 0,315). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sesiones en ninguno de los grupos estudiados (Prueba t-test para muestras relacionadas; todas p ≥ 0,096). El análisis *post-hoc* entre grupos no mostró diferencias significativas en la osmolaridad|OD-OS| entre ninguno de los grupos estudiados (*post-hoc* de Tukey; todos p ≥ 0,998).

La Tabla 21 muestra los valores estadísticos descriptivos y el análisis de diferencias para la osmolaridad y la osmolaridad|OD-OS| de los Grupos 1, 2 y 3, respectivamente.

Tabla 21 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias para los valores de Osmolaridad y Osmolaridad |OD-OS| en mOsm/l DI entre los participantes del Grupo 1 (n = 34), Grupo 2 (n =24) y del Grupo 3 (n = 45). Se incluyeron ambos ojos en el análisis estadístico. Los valores de p se determinaron mediante el T-test para muestras relacionadas. *Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). DE: Desviación Estándar.

	Grupo 1 (4 años)	Grupo 2 (6 años)	Grupo 3 (8 años)
Osmolaridad (mOsm/l)			
Sesión basal (Media ± DE)	322 ± 14	317 ± 14	316 ± 13
Segunda Sesión (Media ± DE)	330 ± 26	325 ± 19	320 ± 18
Diferencia Media ± DE	8.6 ± 30.2	8.4 ± 19.8	4.3 ± 20.8
p	0.106	0.048	0.169
Osmolaridad|OD-OS| (mOsm/l)			
Sesión basal (Media ± DE)	12 ± 10	14 ± 19	9 ± 9
Segunda Sesión (Media ± DE)	14 ± 12	11 ± 9	16 ± 13
Diferencia Media ± DE	1.9 ± 18.2	-3.0 ± 15.7	6.8 ± 14.1
p	0.722	0.526	0.096

5.4.2.3 Análisis los valores de estabilidad lagrimal entre sesiones

El modelo lineal para muestras repetidas con análisis intersujetos asumió la esfericidad de los datos de TFBUT y MBI (W de Mauchly; p > 0,05). No se encontraron diferencias significativas entre sesiones para los valores TFBUT independientemente del grupo (Esfericidad asumida; p = 0,079); tampoco se encontraron diferencias significativas entre sesiones y grupos (Esfericidad asumida; p = 0,252). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de TFBUT entre sesiones en ninguno de los grupos estudiados (Prueba t-test para muestras relacionadas; todos p ≥ 0,028). El análisis *post-hoc* entre grupos mostró diferencias significativas en TFBUT entre el Grupo 2 y los Grupos 1

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

y 3 (*post-hoc* de Tukey; ambos p ≤ 0,001); no se encontraron diferencias significativas entre el Grupo 1 y el Grupo 3 (*post-hoc* de Tukey; p = 0,808).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sesiones para los valores de MBI independientemente del grupo (Esfericidad asumida; p < 0,001); también se encontraron diferencias significativas entre sesiones y grupos (Esfericidad asumida; p = 0,228). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de MBI entre sesiones para los Grupos 1 y 3 (Prueba t-test para muestras relacionadas; ambas p < 0,001), mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sesiones en el Grupo 2 (Prueba t-test para muestras relacionadas; p = 0,626). El análisis *post-hoc* entre grupos mostró diferencias en el MBI entre el Grupo 2 y los Grupos 1 y 3 (*post-hoc* de Tukey; ambos p ≤ 0,005); no se encontraron diferencias significativas entre el Grupo 1 y el Grupo 3 (*post-hoc* de Tukey; p = 0,977).

Los estadísticos descriptivos y el análisis de diferencias para los valores del TFBUT y el MBI para los Grupos 1, 2 y 3 se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre sesiones de los valores medios de TFBUT y MBI de los participantes del Grupo 1 (n = 50), Grupo 2 (n =26) y del Grupo 3 (n = 56). Se incluyeron ambos ojos en el análisis estadístico. Los valores p se determinaron mediante el t-test para muestras relacionadas. *Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). FBUT: Tempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Ter Film Break-Up Time). MBI: Intervalo Máximo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval) DE: Desviación Estándar. S: segundos.

	Grupo 1 (4 años)	Grupo 2 (6 años)	Grupo 3 (8 años)
TFBUT (s)			
Sesión basal (Media ± DE)	3.9 [1.8 – 7.4]	9.6 [5.2 – 16.1]	4.4 [2.8 – 7.6]
Segunda Sesión (Media ± DE)	5.7 [3.6 – 8.0]	8.4 [5.9 – 14.1]	5.3 [3.9 – 7.6]
Diferencia Media ± DE	0.7 ± 6.9	-0.3 ± 7.5	0.9 ± 5.5
p	0.228	0.918	0.223
MBI (s)			
Sesión basal (Media ± DE)	7.1 [3.7 – 14.6]	13.8 [9.6 – 20.5]	8.6 [6.4 – 9.9]
Segunda Sesión (Media ± DE)	12.9 [9.8 – 21.2]	17.2 [11.2 – 28.0]	12.9 [8.7 – 17.6]
Diferencia Media ± DE	4.9 ± 8.6	2.7 ± 8.8	4.6 ± 6.2
p	<0.001*	0.626	<0.001*

5.4.2.4 Análisis de los valores de tinción corneal entre sesiones.

El análisis de tablas cruzadas mediante la prueba de chi-cuadrado mostró una variación en la distribución de los valores de tinción corneal entre las sesiones (prueba exacta de Fisher; p ≤ 0.001). Se calcularon las diferencias entre sesiones para cada grupo. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la tinción corneal entre las sesiones en el Grupo 3 (Prueba de homogeneidad marginal; p = 0.002), mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las sesiones en los Grupos 1 y 2 (Prueba de homogeneidad marginal; ambos p ≥ 0.096).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Los estadísticos descriptivos y el análisis de diferencias para los valores de tinción corneal para los Grupos 1, 2 y 3 se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre sesiones de los valores de Tinciones Corneales de los participantes del Grupo 1 (n = 48), Grupo 2 (n = 28) y del Grupo 3 (n = 55). Ambos ojos fueron incluidos en el análisis estadístico. Los Los valores p se determinaron mediante tablas cruzadas con la prueba de Homogeneidad Marginal. *p estadísticamente significativo ≤ 0.017 (ajuste de Bonferroni. DE: Desviación Estándar.

	Grupo 1 (4 años)	Grupo 2 (6 años)	Grupo 3 (8 años)
Sesión basal (Media ± DE)	1 [0 - 1]	0.5 [0 – 2]	0 [0 - 1]
Segunda Sesión (Media ± DE)	1 [0 - 2]	0 [0 - 2]	0 [0 - 2]
Diferencia Media ± DE	0.3 ± 1.2	-0.7 ± 0.7	0.5 ± 1.1
p	0.096	0.791	0.002*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6 DISCUSIÓN

La DED es una enfermedad crónica que plantea un creciente problema de salud pública con una elevada prevalencia en todo el mundo, hasta el punto de que es considerada una pandemia global.[57] En su definición más reciente, la proporcionada por la TFOS DEWS II, se describe como una enfermedad multifactorial de la superficie ocular caracterizada por la pérdida de la homeostasis de la película lagrimal, acompañada de síntomas oculares, donde la inestabilidad e hiperosmolaridad de la película lagrimal, la inflamación y daño de la superficie ocular y las alteraciones neurosensoriales juegan un papel etiológico.[37]

A lo largo de las décadas, la conceptualización de la DED ha evolucionado significativamente. En sus primeras descripciones, era considerada principalmente como una afección de falta de lágrimas, pero con los avances en la investigación se ha entendido que la enfermedad abarca múltiples factores, tanto ambientales como fisiológicos. Esto ha dado lugar a distintas interpretaciones y definiciones en la literatura médica, lo que, unido a la falta de criterios diagnósticos uniformes, ha dificultado la estimación precisa de su prevalencia a nivel global. Recientemente se han propuesto algoritmos diagnósticos, con especial atención al del TFOS DEWS II, que parecen abarcar un consenso general para diferenciar de manera general los pacientes que tienen y no tienen DED. En este contexto, y dado que el diagnóstico de la enfermedad parece que ya comienza a ser un objetivo resuelto, la correcta identificación de sus subtipos es fundamental.[201] Esta enfermedad se ha subdivido principalmente en dos tipos, la ADDE y la EDE, para tratar de simplificar su manejo clínico. Para diferenciar entre pacientes con ADDE y EDE, existe consenso entre los autores en que la medición del volumen lagrimal, principalmente mediante el TMH o el test de Schirmer, es una herramienta con alto potencial diagnóstico. Sin embargo, los criterios de corte para estas pruebas no están totalmente definidos.[17, 117, 178, 202, 203] Adicionalmente el análisis del estado de los parpados y la MG a través de pruebas como la MGLA o el estudio de la propia capa lipídica, ha sido empleado para detectar la presencia de EDE.[17, 203] Sin embargo, existe un gran número de sujetos que muestran

una combinación de signos de ambos tipos y que a menudo resultan difíciles de diferenciar, siendo clasificados como MDE.[57, 203, 204] Para el diagnóstico de los pacientes con MDE, se debe realizar las baterías de pruebas específicas para la identificación de los subtipos ADDE y EDE.[17, 37] Esto implica una gran inversión de tiempo y motiva la necesidad de simplificar el diagnóstico a través de una única prueba diagnóstica. Dado el debate persistente en la literatura sobre las pruebas más adecuadas para clasificar los subtipos de DED, se vuelve esencial investigar y establecer criterios de corte estandarizados que permitan una diferenciación precisa entre ADDE, EDE y MDE. Así mismo, poder detectar de manera precisa estos subtipos permitirá avanzar tanto en el manejo como en el tratamiento de cada uno. La obtención de estos criterios no solo optimizaría el proceso de diagnóstico, sino que también reduciría significativamente los costes asociados, tanto en términos de tiempo de evaluación como de recursos financieros, al simplificar y agilizar el manejo clínico de la DED.

Por otro lado, además de los problemas en su clasificación, esta enfermedad es considerada crónica, lo que no sólo deteriora significativamente la calidad de vida de quienes la padecen, sino que en casos graves puede derivar en trastornos psicológicos como la ansiedad y la depresión, afectando profundamente el bienestar emocional de los pacientes. Además, su impacto no se limita únicamente al ámbito personal, ya que también impone una carga económica sustancial sobre la sociedad, generando gastos en tratamientos, ausencias laborales y un aumento en la demanda de servicios de salud, lo cual repercute en el sistema sanitario y en la economía en general.[71, 79, 205] Esto supone un desafío considerable para los profesionales y los sistemas de salud en los distintos países.[57, 78, 206] Por ello, es esencial no sólo identificar unos criterios diagnósticos estandarizados sino también conocer como la sintomatología de sequedad y como los signos característicos de la enfermedad cambian a lo largo de la progresión de la enfermedad, es decir, su curso natural; para así, aparte de realizar un diagnóstico más eficaz, poder proporcionar a aquellos que la padecen un mejor tratamiento y pronóstico.

6.1 ESTUDIO 1 – CATEGORIZACIÓN DEL OJO SECO POR DEFICIENCIA ACUOSA MEDANTE EL CRITERIO DE CORTE DE LA ALTURA DEL MENISCO LAGRIMAL MEDIDO CON TEARSCOPE

En las ciencias de la visión y la práctica clínica se ha incrementado el interés por desarrollar dispositivos innovadores que sean portátiles, fáciles de transportar y de uso sencillo, para su empleo en las exploraciones rutinarias de pacientes con DED.[181, 187] En la evaluación de la DED, el estado de la película lagrimal es de gran importancia, siendo su volumen total un parámetro clave para la caracterización de la enfermedad.[17, 207] La evaluación de este volumen lagrimal ha sido descrito clásicamente mediante diferentes técnicas, como son el test de rojo de fenol o el test Schirmer.[17, 131, 134, 179] Sin embargo, presentan las desventajas de ser invasivas debido a la inserción necesaria de tanto el hilo como de la tira, respectivamente. Además, en ambas técnicas es necesario esperar un tiempo determinado para obtener valores óptimos.[134, 208, 209] Por ello, en la práctica clínica diaria se prefieren métodos rápidos y no invasivos para los pacientes, como la medición de la altura del menisco lagrimal. Esta medida de la altura menisco lagrimal ha sido propuesta en la literatura como una medida indirecta de dicho volumen lagrimal, permitiendo diferenciar entre los dos tipos principales de DED, ADDE y EDE.[17, 187]. Debido a la relevancia clínica que presenta la medida del TMH, el objetivo del presente estudio ha sido determinar un posible criterio de corte para diferencia entre los subtipos principales de DED mediante este TMH, empleando una técnica no invasiva.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En las últimas décadas han sido propuestos diferentes métodos no invasivos de medida del TMH, además de la medida tradicional con la lámpara de hendidura.[105] Sin embargo, estos métodos propuestos presentan algunos inconvenientes como: un elevado costo y también su tamaño.[178] Para atajar estos inconvenientes se introdujeron en el mercado otros instrumentos como los interferómetros Tearscope o EasyTear® View+ (Easytear S.R.L, Rovereto, Trentino, Italia) que fueron escogidos por los profesionales, al ofrecer alternativas tanto para reducir costes y su tamaño.[101, 129, 178, 210] Tong et al.[187] realizaron una revisión bibliográfica sobre la capacidad del interferómetro Tearscope de evaluar el TMH, concluyendo que los valores obtenidos de la medida del TMH empleando su iluminación eran similares a los obtenidos con el método tradicional. A su vez Pena-Verdeal et al.[97] compararon los resultados obtenidos empleando diferentes tipos de iluminación y no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medidas de TMH realizadas con el Tearscope o con la lámpara de hendidura, cuando lo hacían mediante el apoyo de software de código abierto para realizar la medida. Los mismos resultados fueron también encontrados por Fodor et al.[181], aunque realizaron la medida del TMH con fluoresceína pero tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medidas realizadas con ambas técnicas. Todos estos autores concluyen que el Tearscope es una herramienta simple, sencilla y con repetibilidad para la evaluación de la DED en el día a día de la práctica clínica.[97, 181, 187]

Diferentes autores obtuvieron valores medios del TMH en diferentes cohortes con participantes que padecían DED, oscilando desde los 0,19 ± 0,05 a los 0,20 ± 0,04 mm en participantes que padecían ADDE, de los 0,271 ± 0,117 a los 0,29 ± 0,09 mm en aquellos que padecían MGD, de los 0,19 ± 0,05 a los 0,20 ± 0,04 mm en participantes con ADDE y MGD, y de 0,169 ± 0,029 mm en un grupo de participantes con DED sin definir.[106, 130, 211] En el presente estudio se encontraron unos valores medios de TMH en participantes tanto con ADDE como EDE similares a los estudios previos, siendo de 0,143 ± 0,054 mm y de 0,228 ± 0,092 mm respectivamente. Estos resultados también muestran que los participantes con ADDE presentan un TMH más bajo que los participantes con EDE. Además, se debe señalar que los valores de TMH obtenidos fueron empleando la iluminación del Tearscope, los cuales parecen ser más bajos que aquellos obtenidos de su medida con lámpara de hendidura, OCT o el Keratograph 5M.[106, 130, 179, 211]

A pesar de que existen estudios en los que se comparan los valores medios de la medida del TMH mediante las diferentes iluminaciones de los dispositivos, estos no han buscado un criterio de corte para el diagnóstico de ADDE y EDE, ni tampoco la evaluación de la severidad del ADDE.[97, 178, 181, 187] En su estudio Niedernolte et al.[178] evaluaron la medida del TMH utilizando tanto la iluminación de la lámpara de hendidura como la del Tearscope. Para ello, emplearon criterios de corte preestablecidos de 0,20, 0,22 y 0,24 mm. Los resultados mostraron que, con la ayuda de la retícula y utilizando aumentos de 8x y 32x, era posible discriminar entre los participantes que presentaban un TMH normal y aquellos con un TMH bajo, basándose en esos tres criterios predefinidos. Por otro lado, mostraron que la medida del TMH empleando un software de análisis de imagen no podía diferenciar entre participantes con un valor normal y un valor bajo cuando el valor de corte se fijaba en 0,20 mm, lo cual no ocurría con los valores de corte de 0,22 y 0,24 mm.[178] Según el procedimiento ROC, el valor de corte óptimo se elige generalmente como el punto de quiebre de la curva entre la sensibilidad y la especificidad para cada uno de los valores observados en la población del estudio, en el presente estudio se obtuvo como criterio de corte, cuando el TMH es evaluado empleando la iluminación del Tearscope y mediante análisis de imagen para el diagnóstico del ADDE, el valor de 0,159 mm. Este valor presentó una sensibilidad del 86,4% y especificidad del 75,4%. Otros investigadores como Singh et al.[211] encontraron un valor de corte de 0,204 mm para distinguir entre participantes

sanos y con ADDE, con una sensibilidad y especificidad del 98,3% y 96,67% respectivamente. A mayores Qiu et al.[212] obtuvieron como valor de corte para diferenciar también entre participantes sanos y con ADDE de 0,248 mm con una sensibilidad del 61% especificidad del 77%. Ambos valores de corte obtenidos en estos estudios resultaron ligeramente mayores de los obtenidos en el presente estudio, pero debemos de tener en cuenta que estos autores comparan participantes sanos con participantes con ADDE, no participantes con ADDE contra EDE, además de que el instrumento empleado fue el OCT.[178, 211, 212] Asimismo, la sensibilidad y especificidad obtenidas en el presente estudio midieron el TMH empleando a iluminación del Tearscope y el análisis de imagen, lo cual en conjunto constituye una opción fiable para los profesionales. Además, el OCT en comparación con el Tearscope presenta un coste mayor, no es portátil y la interpretación de la imagen que proporciona es más compleja. En cuanto a la medida del TMH con la iluminación de la lámpara de hendidura, Garcia-Resua et al.[179] encontraron que el valor medio del TMH en participantes sanos era de 0,25 ± 0,08 mm. Estos resultados fueron similares a los encontrados por Imamura et al. [213] donde los valores medios del TMH empleando la iluminación de la lámpara de hendidura y medidas por retícula fueron de 0,21 ± 0,50 mm. En los estudios previamente descritos las diferencias entre los diferentes sistemas de iluminación y visualización, afectan a los valores medios obtenidos en cada técnica, al igual que ocurre con el presente estudio donde los valores medios fueron más bajos. También debe tenerse en cuenta que en el presente estudio la técnica empleada consta de mayor resolución debido al uso de un análisis de la imagen, obteniéndose una calidad de esta que no puede ser proporcionada mediante el uso de la lámpara de hendidura y la retícula.[132]

Más allá de la detección del ADDE, el TMH es capaz de proporcionar sus grados de severidad. El propio TFOS DEWS II propuso que un valor inferior a 0,10 mm puede diferenciar entre un ADDE Leve-Moderado y uno Moderado-Severo.[17] En el presente estudio se propone un posible criterio de corte para diferenciar entre el ADDE Leve-Moderado y el Moderado-Severo. De acuerdo con lo descrito anteriormente, esto se establece cuando el TMH medido con Tearscope es inferior a 0,105 mm (sensibilidad del 98,1% y especificidad del 80,0%). Este criterio permite, por tanto, la diferenciación clínica de los diferentes subgrupos de ADDE. Según la revisión bibliográfica realizada para la presente tesis, ningún otro informe ha propuesto un criterio de corte para la diferenciación de estos subgrupos.

La principal fortaleza del presente estudio fue el tamaño de la muestra total, 145 participantes, teniendo en cuenta que para su reclutamiento se emplearon criterios estrictos de diagnóstico y clasificación propuesta por el TFOS DEWS II.[17] A su vez, el haber caracterizado y eliminado de los análisis al subgrupo de participantes con MDE se proporcionó una mayor precisión en los resultados, ya que por definición estos participantes se caracterizan por tener tanto la fase lipídica como el volumen de la película lagrimal alterados. Por otro lado, la principal limitación de este estudio fue el reducido número de participantes en el subgrupo con ADDE Moderado-Severo, siendo considerablemente menor en comparación con el subgrupo de ADDE Leve-Moderado. Además, la clasificación de los participantes en los distintos subgrupos de DED mediante la iluminación de la lámpara de hendidura representa una limitación en sí misma. Otra limitación de este estudio fue que, al requerir una imagen digital del parámetro a analizar y su medición posterior, el profesional no obtiene una medición instantánea que pueda utilizarse en un examen clínico rutinario. Además, los valores de corte obtenidos son específicos para el Tearscope, mientras que dispositivos similares como el EasyTear® View+, funcionarían únicamente como una fuente de luz fría y se esperaría que mostraran un criterio de corte similar. La diferencia podría radicar en el sistema de observación, ya que ambos dispositivos tienen un diseño similar pero no idéntico. Por ejemplo, el Tearscope tiene un cono más grande que el EasyTear® View+, lo que podría afectar la visualización al

USC

modificar la distancia de iluminación. Esto genera la necesidad de realizar nuevos estudios de validación para estos dispositivos. Todas estas limitaciones deben abordarse en las futuras investigaciones clínicas.

El presente estudio concluye que la medida del TMH empleando el Tearscope permite diferenciar entre pacientes con ADDE y con EDE, así como permitir gradar la gravedad de ADDE. Además, proporcionar estos valores podrían ser útiles para los profesionales de la salud visual al implementar el Tearscope, ya que es un dispositivo portátil y de fácil uso, en la evaluación clínica rutinaria de la DED. En el futuro será necesario validar la fiabilidad diagnóstica de los valores de corte obtenidos en el presente estudio en una muestra distinta de participantes con DED.

6.2 ESTUDIO 2 – VALORES DE CORTE BASADOS EN EL PATRÓN LIPÍDICO INTERFERENCIAL PARA LA EVALUACIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

Tal y como se ha indicado en el presente documento, la capa lipídica de la película lagrimal desempeña un papel fundamental en evitar la evaporación durante el periodo entre parpadeos y también afecta la estabilidad de la película lagrimal. Entre sus funciones, la capa lipídica proporciona una superficie óptica uniforme, facilita la distribución de la película lagrimal e impide el derrame de lágrimas desde el margen palpebral.[214] Además, su función principal es actuar como una barrera hidrofóbica externa para evitar la evaporación de la fase acuosa.[215] De hecho, los ojos con una capa lipídica ausente, o no confluente, presentan una tasa de evaporación lagrimal cuatro veces mayor.[216] Es por ello que su estudio ha sido como una de las principales dianas diagnosticas a la hora de detectar la presencia de EDE y diferenciarla del ADDE.

Para explorar la relación entre el grosor de la capa lipídica de la película lagrimal y los distintos subtipos de DED, varios estudios han utilizado diferentes métodos de medición. En estudios previos, diferentes investigadores han empleado el interferómetro LipiView (Johnson & Jonhson Surgical Vision Inc., Irvine, EE. UU) para medir el grosor de la capa lipídica de la película lagrimal, y encontraron que las capas de lípidos más finas correspondían a participantes con MGD y valores más altos de los test OSDI y SPEED.[217, 218] Por otro lado, Arita et al. [140] emplearon el LipiView y el Kowa DR-1α para medir el grosor de la capa lipídica y descubrieron que las capas más gruesas se relacionaban con el LLP de franjas interferométricas multicolores. De igual forma, Remeseiro et al.[144] establecieron que un menor grosor de la capa lipídica se asociaba a grados inferiores del LLP, tanto en el esquema de Guillon como en el esquema de Color. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en el presente estudio, donde los valores medios del LLP obtenidos para el LLP-G iban desde el Marmóreo Abierto a Marmóreo Cerrado y para el LLP-C de Gris a Blanco, los cuales se corresponden con capas lipídica más finas. Se debe tener en cuenta que en el presente estudio la muestra empleada está compuesta en su totalidad por participantes con DED, siendo el subtipo más prevalente el EDE, lo cual puede explicar esta tendencia de los LLP a sus grados inferiores.[37, 219] Además, se debe señalar que todos los grupos presentaban una distribución similar en cuanto a los criterios diagnóstico de la DED. Sin embargo, si se observaron diferencias significativas en los criterios de clasificación donde los participantes con MDE presentaban puntuaciones de OSDI más altas y los participantes con EDE presentaban una mayor edad media que en los otros grupos.

Chou et al.[217] observaron que los sujetos que presentaban capas lipídicas lagrimales más finas tienen posibilidades más altas de presentar una mayor producción de la fase acuosa de la

USC DE COMPOSTELA

lágrima y sugieren que, independientemente de tipo de DED, la evaluación del LLP podría constituir una prueba útil para el diagnóstico de la enfermedad. El presente estudio encontró resultados similares en el grupo de participantes con EDE, en el cual se esperarían los valores más elevados de producción lagrimal, mostraron unos LLP de Marmóreo Cerrado y Gris-Blanco correspondientes con unas capas lipídicas más finas. Por otro lado, los participantes con ADDE que tenía una producción lagrimal deficiente mostraron capas lipídicas más gruesas. Estos hallazgos fomentan la realización de estudios en relación con la capacidad diagnóstica del LLP. Sin embargo, ninguno de los esquemas ni el LLP-G ni el LLP-C, fueron capaces de clasificar a los participantes en los subgrupos de ADDE u EDE. Esto podría deberse a que el LLP es más fino en el subgrupo EDE (IQR = Marmóreo Cerrado – Fluido), pero es incluso más fino en el subgrupo MDE (IQR = Marmóreo Abierto – Marmóreo Cerrado), lo cual sugiere que la evaluación de este LLP no sólo estaría influida por la producción de lípidos, sino que también por los cambios que se producen en la capa acuosa de la película lagrimal. En el EDE, el adelgazamiento de la LLP puede deberse principalmente a la deficiencia de lípidos, mientras que, en la MDE, tanto la diferencia de lípidos como los cambios en el componente acuoso contribuyen a un adelgazamiento más profundo de la LLP. En consecuencia, la evaluación de este LLP tiene dificultades para diferenciar entre ADDE y EDE, a que no capta totalmente la complejidad de los cambios en la película lagrimal en el EDE, donde las influencias acuosas son menos significativas. No obstante, ambos esquemas son capaces de diferenciar los participantes con MDE de aquellos que presentan ADDE y EDE. Estableciendo como valor de corte para el LLP-G el Marmóreo Cerrado-Fluido y para LLP-C el Gris-Blanco para favorecer la diferenciación entre participantes con ADDE y MDE. Del mismo modo, para la diferenciación de los pacientes con EDE y MDE se estableció el valor de corte para el LLP-G el Marmóreo Cerrado para el LLP-C el Gris-Blanco. En ambos casos los valores de AUC observados son relativamente modestos, lo que concuerda con la descripción anterior de la influencia de la capa acuosa en el LLP

Además de la diferenciación entre los subtipos de ADDE y EDE del subtipo MDE, la evaluación del LLP también puede proporcionar información sobre la gravedad de la enfermedad cuando se identifica un participante con MDE. Debido a que los participantes con MDE tienen al menos un TMH más comprometido que los participantes con EDE junto con una MGLA mayor que os participantes con ADDE, el presente estudio demostró que la evaluación del LLP puede estimar la tendencia a uno de los dos subtipos principales de la DED en aquellos participantes diagnosticados de MDE.

La principal fortaleza de este estudio fue el gran tamaño muestral, con 240 participantes, y el establecimiento de un criterio de corte para la evaluación del LLP, lo que ayuda a evitar diagnósticos erróneos en pacientes con MDE. Estos participantes suelen ser excluidos de los estudios para prevenir interferencias en los datos que puedan producir un pronóstico desfavorable. Por otro lado, las principales limitaciones fueron la incapacidad de esta prueba para diferenciar entre los subtipos de ADDE y EDE, así como que el número de participantes que conformaron el grupo de MDE era más reducido en comparación con los ostros. Además de esto, cabe señalar que la identificación del propio LLP empleando las diferentes escalas requiere de un examinador experimentado. En futuros estudios se deberían validar técnicas similares empleando diferentes interferómetros y escalas, para permitir a todos los clínicos el acceso a la realización del procedimiento independientemente de la instrumentación de la que dispongan. Así mismo, validar la reproducibilidad de este criterio de corte mediante estudios multicéntricos podría permitir verificar su verdadera utilidad clínica.

Por lo tanto, el presente estudio concluye que la medida del LLP empleando las escalas de Guillon y de Color permiten diferenciar aquellos pacientes que padecen MDE de los dos

subgrupos principales de la DED, según los valores propuestos. Este procedimiento único y más rápido, también puede mejorar el diagnóstico de los pacientes con EDE, así como una mejor clasificación de su gravedad, mejorando así el tratamiento de la enfermedad por parte de los clínicos

6.3 ESTUDIO 3 – ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LA VARIACIÓN EN EL ESTATUS Y EN LA ESTABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES CON OJO SECO SIN TRATAR

Pese al impacto de la DED en la sociedad,[57] el conocimiento del curso natural de la enfermedad es limitado y por ello es necesario investigar la evolución del estado de participantes con diferentes estados diagnósticos de DED no tratada durante un periodo de tiempo prolongado.

En el presente estudio, tras 4 años de curso natural no se encontraron asociaciones significativas, lo que sugiere que, aunque pudiera aparecer cierta variación en el estado del diagnóstico de la enfermedad, no existe una relación lineal entre estas categorías (Ausencia de DED, DED preclínico, Predisposición a DED y DED). Además, la falta de correlación entre el diagnóstico inicial y el final implica que en periodos cortos la enfermedad puede ser heterogénea en su progresión. Sin embargo, tras 6 años de curso natural, se observó una correlación entre el diagnóstico inicial y el final, indicando que la enfermedad puede mostrar una tendencia a la uniformidad en su perfil diagnóstico durante un periodo más largo. No obstante, la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en el estado del diagnóstico de la DED sugiere que la progresión general de la enfermedad se mantuvo relativamente estable durante este periodo de tiempo. En cuanto al seguimiento tras 8 años, sorprendentemente mostró asociaciones significativas entre la clasificación del estado en ambas visitas y una fuerte correlación entre el diagnóstico inicial y el final. Estos hallazgos sugieren que el estado de la enfermedad se hizo estable y predecible con el paso del tiempo, hecho que pudiese ayudar tanto en su pronóstico como en el tratamiento de la enfermedad. No obstante, la ausencia de diferencias significativas en el estado de gravedad, indica que la situación general de la enfermedad no había cambiado sustancialmente durante este periodo de tiempo estudiado más prolongado. De forma general, los resultados de este estudio sugieren que un diagnóstico inicial de Ausencia de DED o de DED se mantienen estables durante el tiempo, mientras que cuando se diagnóstica un DED Preclínico o una Predisposición a DED, podría haber alguna variación. Estos hallazgos tienen importantes implicaciones para la gestión y el tratamiento de la DED, pero son necesarias más investigaciones para comprender plenamente la progresión a largo plazo de esta condición

Hasta la fecha, el número de estudios que describan el curso natural de la DED sin tratar son escasos.[57] Estudios previos han propuesto un modelo teórico que esboza tres etapas de progresión de la DED (inicio, compensación refleja y pérdida de la respuesta compensatoria), este modelo sugiere que la enfermedad puede deteriorarse sin una intervención y, con el tiempo, existir un posible estancamiento en una determinada fase.[72] Esta hipótesis puede estar en consonancia con los presentes resultados del estudio, en los que se observaron resultados inestables o irregulares en el grupo de seguimiento más corto, mientras que no se observó ninguna variación en el grupo de seguimiento más largo. Además, un estudio previo estableció una progresión media de la duración de la DED de 10,5 a 14,5 años en relación con el género, siendo este un tiempo mayor al estudiado en el presente estudio, lo cual puede afectar a los resultados iniciales que mostraban irregularidad.[220] Por otro lado, estudios previos han encontrado una evolución en la severidad o incluso en el estado de la severidad que presentan

USC DE COMPOSTELA

los paciente que padecen DED y otras enfermedades inflamatorias.[221] Es relevante mencionar que la evolución de la severidad de la DED puede estar influenciada por factores como la edad, el género y el historial clínico de los participantes.[48, 222-224] En el presente estudio, la gravedad de los participantes diagnosticados de DED no fue evaluada, mientras que se supone que se trata de participantes con severidades comprendidas entre leves y moderadas, basándonos en el nivel de los síntomas y signos reportados, así como el estado de DED "no tratada" compatible con los grados graves que no permitirá un estilo de vida regular. Debe destacarse que, la observación de un estancamiento en casos asentados y la variabilidad en la progresión en aquellos que están estados intermedios, remarca necesidad de personalizar las intervenciones según el perfil de cada paciente, lo cual es esencial para optimizar el tratamiento y mejorar la calidad de vida de los afectados.

De los 105 participantes que se contactaron inicialmente para acudir al segundo examen ocular, sólo acudieron 71. Mientras que los Grupos 1 y 3 están compuestos por casi todos los participantes contactados inicialmente, el Grupo 2 lo conforman menos de la mitad de los participantes inicialmente contactados, lo cual puede limitar los resultados obtenidos en esta parte del análisis. La disminución en la tasa de respuesta refleja la poca importancia que algunos pacientes pueden dar a los tratamientos y seguimientos, lo que podría afectar la representatividad de los resultados de los estudios. No obstante, estos hallazgos subrayan la dificultad de llevar a cabo estudios de seguimiento, como el presente, que logra mantener una robustez estadística significativa a pesar de los retos encontrados. De todos modos, es importante destacar que la distribución de edades entre los grupos es bastante similar, lo cual es un factor para tener en cuenta, ya que si esto no se controla podría influir en los resultados.[225] Asimismo, se debe tener en cuenta que estudios previos han mostrado que el orígenes étnicos, como el asiático, puede afectar al curso evolutivo de la enfermedad.[73] Sin embargo, este estudio incluye solamente caucásicos de mediana a avanzada edad.

Este estudio de seguimiento a largo plazo indica que, si bien la gravedad de la enfermedad se mantuvo relativamente estable, la estabilidad diagnóstica mejoró con el tiempo, demostrando una mayor correlación entre el diagnóstico inicial y el final. Estos hallazgos enfatizan la importancia de un enfoque multidimensional en la evaluación y tratamiento de la DED, donde se consideren tanto los aspectos clínicos como los psicosociales de los pacientes. La evidencia sugiere el monitoreo a largo plazo y destacan el potencial para una pronosticación más precisa y estrategias de tratamiento individualizadas en el manejo de esta enfermedad. Se necesita más investigación para explorar los mecanismos subyacentes que impulsan estos cambios y para validar estos hallazgos en poblaciones de pacientes más grandes y diversas.

6.4 ESTUDIO 4 – ESTUDIO A LARGO PLAZO DE LOS CAMBIOS EN SÍNTOMAS Y SIGNOS DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO EN PACIENTES SIN TRATAR

Como se mencionó en la discusión del estudio previo, el curso natural de la DED no solo es desconocido en términos de gravedad, sino también en relación con los tipos, síntomas y signos. Aunque se han desarrollado estrategias para su prevención y tratamiento, los estudios sobre la evolución natural de la enfermedad continúan siendo limitados.[71] Es por esto por lo que investigadores y clínicos solicitan la realización de estudios más exhaustivos que incluyan cambios tanto en síntomas como en signos a lo largo del tiempo. Por todo ello, en el presente estudio se analizaron los cambios en la sintomatología y los cambios en los signos diagnósticos principales de la DED después de 4, 6 y 8 años desde su diagnóstico inicial.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En cuanto a la sintomatología, algunos autores encuentran que pacientes con dolor crónico, y enfermedades como la DED, se vuelven más tolerantes debido a que su umbral del dolor se incrementa.[45, 226] Xue et al. [227] que evaluaron la sintomatología de sequedad ocular después de una operación de catarata, encontrando que las puntuaciones de OSDI disminuyen gradualmente tras 6 meses desde la operación y acaban por estabilizarse. El estudio DREAM© no encontró diferencias estadísticamente significativas en la sintomatología de DED en 4 grupos de edad diferenciados (<50, 50-59, 60-69, ≥ 70 años), encontrando que la edad no influye en las puntuaciones de OSDI y asumen que la cronificación de la DED puede no ser grave en todos los casos.[222] No obstante, en el presente estudio se observó que las puntuaciones de OSDI disminuían en la segunda sesión para todos los grupos a lo largo del tiempo, lo cual podría apoyar la hipótesis de que puede haber una disminución inicial de la sintomatología de DED, la cual se mantiene estable a lo largo de los años.

Dada la relevancia clínica de la osmolaridad de la película lagrimal, es necesario evaluar cómo cambia este parámetro durante el curso natural de la enfermedad. El presente estudio muestra valores de osmolaridad más elevados entre sesiones en el grupo de seguimiento a 6 años, mientras que los grupos de seguimiento a 4 y 8 años permanecen estables, pero dentro de los valores esperados para pacientes de esta enfermedad.[37] Aunque Pena-Verdeal et al.[40] concluyen que los valores de osmolaridad pueden cambiar en diferentes momentos del día, en el presente estudio los resultados muestran que los valores de osmolaridad son mayoritariamente estables durante el curso natural de la enfermedad. Además, se sabe que una diferencia entre ojos superior a 8 mOsm/l se considera una característica del diagnóstico de la DED y que, además, esta diferencia entre ojos aumenta la gravedad de la enfermedad.[41] Por ello, en el presente estudio también se evaluó la osmolaridad|OD-OS|, y los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos. Hasta dónde llega el conocimiento de los autores, no existen estudios previos que hallan evaluado la variación de este parámetro a lo largo del tiempo.

En cuanto a la estabilidad de la película lagrimal, los resultados del presente estudio no han mostrado ninguna variación en los valores de TFBUT entre sesiones en ningún grupo. Zao et al.[222] aunque principalmente evaluaron como el aumento de la edad se asocia con los signos y síntomas de la DED, no encontró diferencias significativas en cuanto al TFBUT entre los grupos de edad hasta los 6 y 12 meses. Sorprendentemente no se encontraron cambios en el TFBUT a lo largo del curso natural de la enfermedad, cuando teóricamente la estabilidad de la película lagrimal podría disminuir como consecuencia de la hiperosmolaridad generada en la superficie ocular, la cual tampoco cambió en ninguno de los grupos del presente estudio.[5] Por lo tanto, aunque el uso de sustitutos lagrimales puede mejorar la estabilidad de la película lagrimal, los resultados del presente estudio muestran que, incluso sin tratamiento para la DED, no hay un empeoramiento con el tiempo de esta.[178, 199]

Además, aunque los valores medios de MBI obtenidos en la primera sesión estaban dentro de los rangos descritos por diferentes autores para pacientes con DED, el presente estudio muestra que los valores tienden a aumentar con el tiempo en los grupos de seguimiento de 4 y 8 años tras el primer examen ocular.[111, 186] El MBI proporciona información sobre el momento en el que la ruptura de la película lagrimal produce molestias oculares, activando la nocicepción. Por lo tanto, el aumento de los valores temporales a lo largo del tiempo puede deberse a que el MBI tiene una implicación sensorial, al igual que ocurre con la sintomatología, existe un aumento de la tolerancia al disconfort a lo largo del tiempo.[45, 228]

El posible daño en la superficie ocular fue evaluado mediante la medida de la tinción corneal. Los resultados del presente estudio muestran un incremento de la tinción corneal entre sesiones en el grupo de seguimiento de 8 años. El daño en la superficie ocular es una

consecuencia de la cascada inflamatoria que ocurre en esta superficie debido a la inestabilidad e hiperosmolaridad de la película lagrimal.[5] Por lo tanto, estos resultados son esperables, dado que los valores de osmolaridad se mantuvieron elevados a lo largo del curso natural de la enfermedad en el presente estudio. En cambio, los pacientes con DED tratados con sustitutos lagrimales mostraron una disminución en la osmolaridad a rangos normales, acompañada de una mejora en la salud ocular y una reducción consecuente en la tinción corneal.[229-231]

La principal fortaleza de este estudio es que responde a la demanda, por parte de clínicos e investigadores, de estudios a largo plazo que aborden tanto cambios en los síntomas como en los signos característicos de la DED, los cuales son actualmente escasos.[57, 94] No obstante, también existen algunas limitaciones para tener en cuenta, como que el tamaño de la muestra no ha sido la misma en todos os grupos y pruebas, especialmente en el Grupo 2, ya que algunos pacientes no se sometieron a algunas pruebas en el primer examen. Además, la inclusión de un grupo control habría sido positivo para determinar si los cambios en los parámetros son producidos únicamente por el curso de la enfermedad o si son inherentes al envejecimiento. Adicionalmente, en el presente estudio no se llevó a cabo una clasificación secundaria de los participantes en los diferentes subtipos de DED (EDE versus ADDE), esto podría ser un factor interesante para considerar en futuros estudios para determinar el curso natural de los signos específicos de cada subtipo de DED. Investigar cómo las diferencias demográficas y los estilos de vida afectan la progresión de la DED podría ofrecer valiosas perspectivas sobre la naturaleza multifacética de la enfermedad.

En conclusión, el presente estudio a largo plazo muestra que la osmolaridad entre ojos y el TFBUT se mantienen estables durante el curso natural de la enfermedad en aquellos pacientes diagnosticados de DED y que no fueron tratados, mientras que los daños en la superficie ocular si se vieron incrementados. Basándose en los resultados del estudio, es recomendable establecer un seguimiento regular de los pacientes y personalizar los tratamientos según la evolución de la enfermedad. Estos hallazgos podrían impulsar futuras investigaciones sobre tratamientos más efectivos para la DED, enfocándose en mejorar la estabilidad de la lágrima y reducir la hiperosmolaridad para prevenir el daño en la superficie corneal durante el curso de la enfermedad. Estos resultados subrayan la importancia de un análisis longitudinal para comprender los cambios y la progresión de las características de la superficie ocular a lo largo del tiempo. Se requieren más investigaciones y exámenes de seguimiento para profundizar en los mecanismos subyacentes y las implicaciones de estas diferencias observadas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7 CONCLUSIONES

Tras la realización de las citadas investigaciones en el marco de la presente tesis doctoral se deducen los siguientes hechos:

1. En relación con el objetivo secundario 1, se establece como criterio de corte para diferenciar ente los subtipos ADDE y EDE un TMH de 0,159 mm empleando la iluminación del Tearscope.
2. En relación con el objetivo secundario 1, se establece como criterio de corte para diferenciar ente los subtipos ADDE Leve-Moderado y el ADDE Moderado-Severo un TMH de 0,105 mm empleando la iluminación del Tearscope.
3. En relación con el objetivo secundario 2, se establece como criterio de corte para diferenciar entre los subtipos MDE y EDE un valor de LLP Marmóreo Cerrado, empleando para la evaluación del LLP el interferómetro Tearscope y la escala de clasificación de Guillon.
4. En relación con el objetivo secundario 2, se establece como criterio de corte para diferenciar entre MDE y EDE un valor de LLP Gris-Blanco, empleando la para la evaluación del LLP el interferómetro Tearscope y la escala de clasificación de características de Color.
5. En relación con el objetivo secundario 3, el seguimiento a largo plazo mostró que el diagnóstico inicial de DED o ausencia de DED se mantuvo estable en sujetos no tratados, con variaciones observadas en casos preclínicos y predispuestos a DED, revelando una fuerte correlación entre el diagnóstico inicial y el final.
6. En relación con el objetivo secundario 4, el seguimiento a largo plazo de los sujetos diagnosticados de DED y no tratados reveló que, aunque los valores de osmolaridad entre ojos y TFBUT se mantuvieron estables durante el curso natural de la enfermedad, se observaron signos de daño en la superficie ocular que aumentaron con el tiempo.
7. En relación con el objetivo secundario 4, los sujetos diagnosticados de DED y no tratados durante un periodo determinado experimentaron una disminución en la sintomatología subjetiva y en la reacción refleja a la nocicepción desde el primer examen ocular, lo que sugiere la aparición de hipoalgesia en la superficie ocular debido a la exposición constante a un ambiente inestable.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Experimental eye research* 2020; **197:** 108115.

2. Fernandez-Valencia R, Gomez Pellico L. Functional anatomy of the human saccus lacrimalis. *Acta anatomica* 1990; **139**(1)**:** 54-59.

3. Dean C, Ito M, Makarenkova HP, Faber SC, Lang RA. Bmp7 regulates branching morphogenesis of the lacrimal gland by promoting mesenchymal proliferation and condensation. *Development* 2004; **131**(17)**:** 4155-4165.

4. Machiele R, Lopez MJ, Czyz CN. Anatomy, Head and Neck: Eye Lacrimal Gland. StatPearls: Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Michael Lopez declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Craig Czyz declares no relevant financial relationships with ineligible companies.; 2024.

5. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S *et al.* TFOS DEWS II pathophysiology report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 438-510.

6. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Experimental eye research* 2004; **78**(3)**:** 409-416.

7. Paulsen F. The human nasolacrimal ducts. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology* 2003; **170:** III-XI, 1-106.

8. Scott G, Balsiger H, Kluckman M, Fan J, Gest T. Patterns of innervation of the lacrimal gland with clinical application. *Clinical anatomy* 2014; **27**(8)**:** 1174-1177.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

9. King-Smith PE, Fink BA, Fogt N, Nichols KK, Hill RM, Wilson GS. The thickness of the human precorneal tear film: evidence from reflection spectra. *Investigative ophthalmology & visual science* 2000; **41**(11)**:** 3348-3359.

10. Willcox MDP, Argueso P, Georgiev GA, Holopainen JM, Laurie GW, Millar TJ *et al.* TFOS DEWS II Tear Film Report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 366-403.

11. Dilly PN. Structure and function of the tear film. *Advances in experimental medicine and biology* 1994; **350:** 239-247.

12. Chen HB, Yamabayashi S, Ou B, Tanaka Y, Ohno S, Tsukahara S. Structure and composition of rat precorneal tear film. A study by an in vivo cryofixation. *Investigative ophthalmology & visual science* 1997; **38**(2)**:** 381-387.

13. King-Smith PE, Hinel EA, Nichols JJ. Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning. *Investigative ophthalmology & visual science* 2010; **51**(5)**:** 2418-2423.

14. Pucker AD, Haworth KM. The presence and significance of polar meibum and tear lipids. *The ocular surface* 2015; **13**(1)**:** 26-42.

15. Cwiklik L. Tear film lipid layer: A molecular level view. *Biochimica et biophysica acta* 2016; **1858**(10)**:** 2421-2430.

16. Tiffany JM. The normal tear film. *Developments in ophthalmology* 2008; **41:** 1-20.

17. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K *et al.* TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 539-574.

18. Georgiev GA, Eftimov P, Yokoi N. Contribution of Mucins towards the Physical Properties of the Tear Film: A Modern Update. *International journal of molecular sciences* 2019; **20**(24).

19. Brown SI, Dervichian DG. Hydrodynamics of blinking. In vitro study of the interaction of the superficial oily layer and the tears. *Archives of ophthalmology* 1969; **82**(4)**:** 541-547.

20. King-Smith PE, Fink BA, Nichols JJ, Nichols KK, Braun RJ, McFadden GB. The contribution of lipid layer movement to tear film thinning and breakup. *Investigative ophthalmology & visual science* 2009; **50**(6)**:** 2747-2756.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

21. Braun RJ, King-Smith PE, Begley CG, Li L, Gewecke NR. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle. *Progress in retinal and eye research* 2015; **45:** 132-164.

22. van Best JA, Benitez del Castillo JM, Coulangeon LM. Measurement of basal tear turnover using a standardized protocol. European concerted action on ocular fluorometry. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 1995; **233**(1)**:** 1-7.

23. Kuppens EV, Stolwijk TR, de Keizer RJ, van Best JA. Basal tear turnover and topical timolol in glaucoma patients and healthy controls by fluorophotometry. *Investigative ophthalmology & visual science* 1992; **33**(12)**:** 3442-3448.

24. Van Haeringen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol* 1981; **26**(2)**:** 84-96.

25. Dartt DA, Willcox MD. Complexity of the tear film: importance in homeostasis and dysfunction during disease. *Experimental eye research* 2013; **117:** 1-3.

26. Brown SH, Kunnen CM, Papas EB, Lazon de la Jara P, Willcox MD, Blanksby SJ *et al.* Intersubject and Interday Variability in Human Tear and Meibum Lipidomes: A Pilot Study. *The ocular surface* 2016; **14**(1)**:** 43-48.

27. Brown SH, Kunnen CM, Duchoslav E, Dolla NK, Kelso MJ, Papas EB *et al.* A comparison of patient matched meibum and tear lipidomes. *Investigative ophthalmology & visual science* 2013; **54**(12)**:** 7417-7424.

28. Pucker AD, Nichols JJ. Analysis of meibum and tear lipids. *The ocular surface* 2012; **10**(4)**:** 230-250.

29. Zhou L, Zhao SZ, Koh SK, Chen L, Vaz C, Tanavde V *et al.* In-depth analysis of the human tear proteome. *Journal of proteomics* 2012; **75**(13)**:** 3877-3885.

30. Corfield AP. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochimica et biophysica acta* 2015; **1850**(1)**:** 236-252.

31. Khanna RK, Catanese S, Emond P, Corcia P, Blasco H, Pisella PJ. Metabolomics and lipidomics approaches in human tears: A systematic review. *Surv Ophthalmol* 2022; **67**(4)**:** 1229-1243.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

32. Kumar NR, Praveen M, Narasimhan R, Khamar P, D'Souza S, Sinha-Roy A *et al.* Tear biomarkers in dry eye disease: Progress in the last decade. *Indian journal of ophthalmology* 2023; **71**(4)**:** 1190-1202.

33. Li YY, Chang JW, Hsieh LL, Yeh KY. Neutralization of interleukin (IL)-10 released by monocytes/macrophages enhances the up-regulatory effect of monocyte/macrophage-derived IL-6 on expressions of IL-6 and MUC1, and migration in HT-29 colon cancer cells. *Cellular immunology* 2010; **265**(2)**:** 164-171.

34. Albertsmeyer AC, Kakkassery V, Spurr-Michaud S, Beeks O, Gipson IK. Effect of pro-inflammatory mediators on membrane-associated mucins expressed by human ocular surface epithelial cells. *Experimental eye research* 2010; **90**(3)**:** 444-451.

35. Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2006; **369**(1)**:** 17-28.

36. Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annual review of physiology* 2008; **70:** 431-457.

37. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK *et al.* TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 276-283.

38. Lemp MA FG. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *The ocular surface* 2007; **5**(2)**:** 75-92.

39. Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J *et al.* Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *American journal of ophthalmology* 2011; **151**(5)**:** 792-798 e791.

40. Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Garcia-Queiruga J, Sabucedo-Villamarin B, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Diurnal variations of tear film osmolarity on the ocular surface. *Clinical & experimental optometry* 2023; **106**(4)**:** 351-361.

41. Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Vazquez-Sanchez C, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Inter-eye osmolarity differences in patients with symptomatic and non-symptomatic dry eyes. *Arquivos brasileiros de oftalmologia* 2020; **83**(2)**:** 103-108.

42. Pflugfelder SC, de Paiva CS. The Pathophysiology of Dry Eye Disease: What We Know and Future Directions for Research. *Ophthalmology* 2017; **124**(11S)**:** S4-S13.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

43. Lu Y, Wu Y, Zhou X, Inomata T, Gu L, Jin X *et al.* Editorial: Advances in the Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Dry Eye Disease. *Frontiers in medicine* 2022; **9:** 925876.

44. Barabino S. A Narrative Review of Current Understanding and Classification of Dry Eye Disease with New Insights on the Impact of Dry Eye during the COVID-19 Pandemic. *Ophthalmology and therapy* 2021; **10**(3)**:** 495-507.

45. Galor A, Moein HR, Lee C, Rodriguez A, Felix ER, Sarantopoulos KD *et al.* Neuropathic pain and dry eye. *The ocular surface* 2018; **16**(1)**:** 31-44.

46. Wang MTM, Craig JP, Power B, Wolffsohn JS. Prospective registry-based external validation cohort analysis of dry eye disease subtype classification criteria. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2024**:** 102290.

47. Vidal-Rohr M, Craig JP, Davies LN, Wolffsohn JS. Classification of dry eye disease subtypes. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2024**:** 102257.

48. Garcia-Queiruga J, Pena-Verdeal H, Sabucedo-Villamarin B, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. A cross-sectional study of non-modifiable and modifiable risk factors of dry eye disease states. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2023; **46**(3)**:** 101800.

49. Begley CG, Caffery B, Chalmers RL, Mitchell GL, Dry Eye Investigation Study G. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. *Cornea* 2002; **21**(7)**:** 664-670.

50. Garcia-Queiruga J, Pena-Verdeal H, Sabucedo-Villamarin B, Garcia-Resua C, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Analysis of the Differences in Ocular Surface Damage and Inflammatory Signs between Healthy and Evaporative Dry Eye Participants. *Ocular immunology and inflammation* 2023; **31**(5)**:** 970-977.

51. Baudouin C. [A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface]. *Journal francais d'ophtalmologie* 2007; **30**(3)**:** 239-246.

52. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Investigative ophthalmology & visual science* 2003; **44**(1)**:** 124-129.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

53. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME *et al.* Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Experimental eye research* 2006; **83**(3)**:** 526-535.

54. Rao SK, Mohan R, Gokhale N, Matalia H, Mehta P. Inflammation and dry eye disease-where are we? *International journal of ophthalmology* 2022; **15**(5)**:** 820-827.

55. Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001; **45 Suppl 2:** S211-220.

56. Knop E, Knop N. [Inflammation in Dry Eye Disease - Information on Diagnostic Testing and Therapy Using the Scientific Online Information Platform OSCB-Berlin.org]. *Klinische Monatsblatter fur Augenheilkunde* 2020; **237**(5)**:** 627-636.

57. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F *et al.* TFOS DEWS II Epidemiology Report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 334-365.

58. Koh S, Rao SK, Srinivas SP, Tong L, Young AL. Evaluation of ocular surface and tear function - A review of current approaches for dry eye. *Indian journal of ophthalmology* 2022; **70**(6)**:** 1883-1891.

59. Papas EB. The global prevalence of dry eye disease: A Bayesian view. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2021; **41**(6)**:** 1254-1266.

60. Vehof J, Snieder H, Jansonius N, Hammond CJ. Prevalence and risk factors of dry eye in 79,866 participants of the population-based Lifelines cohort study in the Netherlands. *The ocular surface* 2021; **19:** 83-93.

61. Vehof J, Kozareva D, Hysi PG, Hammond CJ. Prevalence and risk factors of dry eye disease in a British female cohort. *The British journal of ophthalmology* 2014; **98**(12)**:** 1712-1717.

62. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R *et al.* Dry eye in the beaver dam offspring study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *American journal of ophthalmology* 2014; **157**(4)**:** 799-806.

63. Malet F, Le Goff M, Colin J, Schweitzer C, Delyfer MN, Korobelnik JF *et al.* Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. *Acta ophthalmologica* 2014; **92**(6)**:** e429-436.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

64. Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, Emamian MH, Mehravaran S, Shariati M *et al.* Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clinical & experimental ophthalmology* 2014; **42**(3)**:** 242-248.

65. Viso E, Rodriguez-Ares MT, Gude F. Prevalence of and associated factors for dry eye in a Spanish adult population (the Salnes Eye Study). *Ophthalmic epidemiology* 2009; **16**(1)**:** 15-21.

66. Uchino M, Dogru M, Yagi Y, Goto E, Tomita M, Kon T *et al.* The features of dry eye disease in a Japanese elderly population. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2006; **83**(11)**:** 797-802.

67. Han SB, Hyon JY, Woo SJ, Lee JJ, Kim TH, Kim KW. Prevalence of dry eye disease in an elderly Korean population. *Archives of ophthalmology* 2011; **129**(5)**:** 633-638.

68. Guo B, Lu P, Chen X, Zhang W, Chen R. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. *Ophthalmic epidemiology* 2010; **17**(4)**:** 234-241.

69. Lu P, Chen X, Liu X, Yu L, Kang Y, Xie Q *et al.* Dry eye syndrome in elderly Tibetans at high altitude: a population-based study in China. *Cornea* 2008; **27**(5)**:** 545-551.

70. Moss SE, Klein R, Klein BE. Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2008; **85**(8)**:** 668-674.

71. Donthineni PR, Shanbhag SS, Basu S. An Evidence-Based Strategic Approach to Prevention and Treatment of Dry Eye Disease, a Modern Global Epidemic. *Healthcare* 2021; **9**(1).

72. Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *The ocular surface* 2009; **7**(2)**:** 78-92.

73. Wang MTM, Craig JP. Natural history of dry eye disease: Perspectives from inter-ethnic comparison studies. *The ocular surface* 2019; **17**(3)**:** 424-433.

74. Li M, Gong L, Chapin WJ, Zhu M. Assessment of vision-related quality of life in dry eye patients. *Investigative ophthalmology & visual science* 2012; **53**(9)**:** 5722-5727.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

75. Kai JY, Wu YB, Shi B, Li DL, Dong XX, Wang P *et al.* Dry eye symptoms and health-related quality of life among Chinese individuals: a national-based study. *The British journal of ophthalmology* 2024.

76. Lin CW, Lin MY, Huang JW, Wang TJ, Lin IC. Impact of dry eye disease treatment on patient quality of life. *Frontiers in medicine* 2024; **11:** 1305579.

77. Yu J, Asche CV, Fairchild CJ. The economic burden of dry eye disease in the United States: a decision tree analysis. *Cornea* 2011; **30**(4)**:** 379-387.

78. McDonald M, Patel DA, Keith MS, Snedecor SJ. Economic and Humanistic Burden of Dry Eye Disease in Europe, North America, and Asia: A Systematic Literature Review. *The ocular surface* 2016; **14**(2)**:** 144-167.

79. Chan C, Ziai S, Myageri V, Burns JG, Prokopich CL. Economic burden and loss of quality of life from dry eye disease in Canada. *BMJ Open Ophthalmol* 2021; **6**(1)**:** e000709.

80. Waduthantri S, Yong SS, Tan CH, Shen L, Lee MX, Nagarajan S *et al.* Cost of dry eye treatment in an Asian clinic setting. *PloS one* 2012; **7**(6)**:** e37711.

81. Mizuno Y, Yamada M, Shigeyasu C. Annual direct cost of dry eye in Japan. *Clinical ophthalmology* 2012; **6:** 755-760.

82. Luo Y, Yang W, Qi M, Wang Y, Li S, Wang M *et al.* Annual direct economic burden and influencing factors of dry eye disease in Central China. *Ophthalmic epidemiology* 2021**:** 1-8.

83. Fiscella RG, Lee JT, Walt JG, Killian TD. Utilization characteristics of topical cycolsporine and punctal plugs in a managed care database. *The American journal of managed care* 2008; **14**(3 Suppl)**:** S107-112.

84. McMonnies CW, Ho A. Responses to a dry eye questionnaire from a normal population. *Journal of the American Optometric Association* 1987; **58**(7)**:** 588-591.

85. Tang F, Wang J, Tang Z, Kang M, Deng Q, Yu J. Accuracy of McMonnies Questionnaire as a Screening Tool for Chinese Ophthalmic Outpatients. *PloS one* 2016; **11**(4)**:** e0153047.

86. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Archives of ophthalmology* 2000; **118**(5)**:** 615-621.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

87. Chalmers RL, Begley CG, Caffery B. Validation of the 5-Item Dry Eye Questionnaire (DEQ-5): Discrimination across self-assessed severity and aqueous tear deficient dry eye diagnoses. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2010; **33**(2)**:** 55-60.

88. Akowuah PK, Adjei-Anang J, Nkansah EK, Fummey J, Osei-Poku K, Boadi P *et al.* Comparison of the performance of the dry eye questionnaire (DEQ-5) to the ocular surface disease index in a non-clinical population. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2022; **45**(3)**:** 101441.

89. Abetz L, Rajagopalan K, Mertzanis P, Begley C, Barnes R, Chalmers R *et al.* Development and validation of the impact of dry eye on everyday life (IDEEL) questionnaire, a patient-reported outcomes (PRO) measure for the assessment of the burden of dry eye on patients. *Health and quality of life outcomes* 2011; **9:** 111.

90. Schaumberg DA, Gulati A, Mathers WD, Clinch T, Lemp MA, Nelson JD *et al.* Development and validation of a short global dry eye symptom index. *The ocular surface* 2007; **5**(1)**:** 50-57.

91. Khadka J, McAlinden C, Pesudovs K. Validation of the National Eye Institute Visual Function Questionnaire-25 (NEI VFQ-25) in age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science* 2012; **53**(3)**:** 1276.

92. Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: a review. *Experimental eye research* 2013; **117:** 28-38.

93. Wang MTM, Craig JP. Comparative Evaluation of Clinical Methods of Tear Film Stability Assessment: A Randomized Crossover Trial. *JAMA ophthalmology* 2018; **136**(3)**:** 291-294.

94. Tsubota K, Yokoi N, Shimazaki J, Watanabe H, Dogru M, Yamada M *et al.* New Perspectives on Dry Eye Definition and Diagnosis: A Consensus Report by the Asia Dry Eye Society. *The ocular surface* 2017; **15**(1)**:** 65-76.

95. Paugh JR, Tse J, Nguyen T, Sasai A, Chen E, De Jesus MT *et al.* Efficacy of the Fluorescein Tear Breakup Time Test in Dry Eye. *Cornea* 2020; **39**(1)**:** 92-98.

96. Johnson ME, Murphy PJ. Measurement of ocular surface irritation on a linear interval scale with the ocular comfort index. *Investigative ophthalmology & visual science* 2007; **48**(10)**:** 4451-4458.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

97. Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Ramos L, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. Diurnal variations in tear film break-up time determined in healthy subjects by software-assisted interpretation of tear film video recordings. *Clinical & experimental optometry* 2016; **99**(2)**:** 142-148.

98. Garcia-Queiruga J, Pena-Verdeal H, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Inter-week variation of meibometry and tear break-up time in healthy subjects. *Clinical & experimental optometry* 2021; **104**(6)**:** 691-697.

99. Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Sabucedo-Villamarin B, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Capability of the Inter-Eye Differences in Osmolarity, Break-Up Time and Corneal Staining on the Diagnostic of Dry Eye. *Ocular immunology and inflammation* 2023**:** 1-8.

100. Mooi JK, Wang MTM, Lim J, Muller A, Craig JP. Minimising instilled volume reduces the impact of fluorescein on clinical measurements of tear film stability. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2017; **40**(3)**:** 170-174.

101. Garcia-Queiruga J, Pena-Verdeal H, Sabucedo-Villamarin B, Garcia-Resua C, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Analysis of the Differences in Ocular Surface Damage and Inflammatory Signs between Healthy and Evaporative Dry Eye Participants. *Ocular immunology and inflammation* 2022**:** 1-8.

102. Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease. *The ocular surface* 2023; **29:** 298-300.

103. Vidas Pauk S, Petricek I, Jukic T, Popovic-Suic S, Tomic M, Kalauz M *et al.* Noninvasive Tear Film Break-up Time Assessment Using Handheld Lipid Layer Examination Instrument. *Acta clinica Croatica* 2019; **58**(1)**:** 63-71.

104. 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. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 1998; **21**(4)**:** 98-103.

105. Tian L, Qu JH, Zhang XY, Sun XG. Repeatability and Reproducibility of Noninvasive Keratograph 5M Measurements in Patients with Dry Eye Disease. *Journal of ophthalmology* 2016; **2016:** 8013621.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

106. Kim J, Kim JY, Seo KY, Kim TI, Chin HS, Jung JW. Location and pattern of non-invasive keratographic tear film break-up according to dry eye disease subtypes. *Acta ophthalmologica* 2019; **97**(8)**:** e1089-e1097.

107. Lee R, Yeo S, Aung HT, Tong L. Agreement of noninvasive tear break-up time measurement between Tomey RT-7000 Auto Refractor-Keratometer and Oculus Keratograph 5M. *Clinical ophthalmology* 2016; **10:** 1785-1790.

108. Ayaki M, Kawashima M, Uchino M, Tsubota K, Negishi K. Possible association between subtypes of dry eye disease and seasonal variation. *Clinical ophthalmology* 2017; **11:** 1769-1775.

109. Nakamori K, Odawara M, Nakajima T, Mizutani T, Tsubota K. Blinking is controlled primarily by ocular surface conditions. *American journal of ophthalmology* 1997; **124**(1)**:** 24-30.

110. Johnston PR, Rodriguez J, Lane KJ, Ousler G, Abelson MB. The interblink interval in normal and dry eye subjects. *Clinical ophthalmology* 2013; **7:** 253-259.

111. Inomata T, Iwagami M, Hiratsuka Y, Fujimoto K, Okumura Y, Shiang T *et al.* Maximum blink interval is associated with tear film breakup time: A new simple, screening test for dry eye disease. *Scientific reports* 2018; **8**(1)**:** 13443.

112. Potvin R, Makari S, Rapuano CJ. Tear film osmolarity and dry eye disease: a review of the literature. *Clinical ophthalmology* 2015; **9:** 2039-2047.

113. Tashbayev B, Utheim TP, Utheim OA, Raeder S, Jensen JL, Yazdani M *et al.* Utility of Tear Osmolarity Measurement in Diagnosis of Dry Eye Disease. *Scientific reports* 2020; **10**(1)**:** 5542.

114. 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. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 1996; **234**(9)**:** 542-546.

115. Gilbard JP, Farris RL, Santamaria J, 2nd. Osmolarity of tear microvolumes in keratoconjunctivitis sicca. *Archives of ophthalmology* 1978; **96**(4)**:** 677-681.

116. Cable MK, Hendrickson RO, Hanna C. Evaluation of drugs in ointment for mydriasis and cycloplegia. *Archives of ophthalmology* 1978; **96**(1)**:** 84-86.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

117. Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life* 2022; **12**(12).

118. Maldonado-Codina C, Read ML, Efron N, Dobson CB, Morgan PB. Observation of solution-induced corneal staining with fluorescein, rose bengal and lissamine green. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2013; **36**(5)**:** 267-270.

119. Doughty MJ. Rose bengal staining as an assessment of ocular surface damage and recovery in dry eye disease-a review. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2013; **36**(6)**:** 272-280.

120. Srivastava K, Bhatnagar KR, Shakrawal J, Tandon M, Jaisingh K, Pandey L *et al.* Ocular surface changes in primary open-angle glaucoma on anti-glaucoma medications versus treatment-naive patients. *Indian journal of ophthalmology* 2024; **72**(3)**:** 374-380.

121. Bandamwar KL, Papas EB, Garrett Q. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2014; **37**(3)**:** 213-223.

122. Srinivas SP, Rao SK. Ocular surface staining: Current concepts and techniques. *Indian journal of ophthalmology* 2023; **71**(4)**:** 1080-1089.

123. Nahorniak M, Pop-Georgievski O, Velychkivska N, Filipova M, Rydvalova E, Gunar K *et al.* Rose Bengal-Modified Upconverting Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation. *Life* 2022; **12**(9).

124. Peterson RC, Wolffsohn JS, Fowler CW. Optimization of anterior eye fluorescein viewing. *American journal of ophthalmology* 2006; **142**(4)**:** 572-575.

125. Barr JT, Schechtman KB, Fink BA, Pierce GE, Pensyl CD, Zadnik K *et al.* Corneal scarring in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study: baseline prevalence and repeatability of detection. *Cornea* 1999; **18**(1)**:** 34-46.

126. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003; **22**(7)**:** 640-650.

127. Akpek EK. Cornea Classic: "Grading of Corneal and Conjunctival Staining in the Context of Other Dry Eye Tests," Bron, Evans, and Smith, 2003. *Cornea* 2023.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

128. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *The CLAO journal : official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc* 1995; **21**(4)**:** 221-232.

129. Lam AK, Tai SK, Chan JK, Ng RW. Lower Tear Meniscus Height Measurements Using Keratography and Swept-Source Optical Coherence Tomography and Effect of Fluorescein Instillation Methods. *Current eye research* 2019; **44**(11)**:** 1203-1208.

130. Lee KW, Kim JY, Chin HS, Seo KY, Kim TI, Jung JW. Assessment of the Tear Meniscus by Strip Meniscometry and Keratograph in Patients With Dry Eye Disease According to the Presence of Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2017; **36**(2)**:** 189-195.

131. Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Sabucedo-Villamarin B, Garcia-Resua C, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. A Comprehensive Study on Tear Meniscus Height Inter-Eye Differences in Aqueous Deficient Dry Eye Diagnosis. *Journal of clinical medicine* 2024; **13**(3).

132. Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Barreira N, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Interobserver variability of an open-source software for tear meniscus height measurement. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2016; **39**(4)**:** 249-256.

133. Ekici E, Caglar C, Akgumus EU. The Repeatability, Reproducibility, and Correlation of the Schirmer Test: A Comparison of Open versus Closed Eye. *Korean journal of ophthalmology : KJO* 2022; **36**(4)**:** 306-312.

134. de Monchy I, Gendron G, Miceli C, Pogorzalek N, Mariette X, Labetoulle M. Combination of the Schirmer I and phenol red thread tests as a rescue strategy for diagnosis of ocular dryness associated with Sjogren's syndrome. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; **52**(8)**:** 5167-5173.

135. Bawazeer AM, Hodge WG. One-minute schirmer test with anesthesia. *Cornea* 2003; **22**(4)**:** 285-287.

136. Li N, Deng XG, He MF. Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *International journal of ophthalmology* 2012; **5**(4)**:** 478-481.

137. Cho P. The cotton thread test: a brief review and a clinical study of its reliability on Hong Kong-Chinese. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 1993; **70**(10)**:** 804-808.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

138. Doughty MJ, Whyte J, Li W. The phenol red thread test for lacrimal volume--does it matter if the eyes are open or closed? *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2007; **27**(5)**:** 482-489.

139. Patel S, Farrell J, Blades KJ, Grierson DJ. The value of a phenol red impregnated thread for differentiating between the aqueous and non-aqueous deficient dry eye. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 1998; **18**(6)**:** 471-476.

140. Arita R, Morishige N, Fujii T, Fukuoka S, Chung JL, Seo KY *et al.* Tear Interferometric Patterns Reflect Clinical Tear Dynamics in Dry Eye Patients. *Investigative ophthalmology & visual science* 2016; **57**(8)**:** 3928-3934.

141. McDonald JE. Surface phenomena of tear films. *Transactions of the American Ophthalmological Society* 1968; **66:** 905-939.

142. Hosaka E, Kawamorita T, Ogasawara Y, Nakayama N, Uozato H, Shimizu K *et al.* Interferometry in the evaluation of precorneal tear film thickness in dry eye. *American journal of ophthalmology* 2011; **151**(1)**:** 18-23 e11.

143. Garcia-Resua C, Pena-Verdeal H, Minones M, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Interobserver and intraobserver repeatability of lipid layer pattern evaluation by two experienced observers. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2014; **37**(6)**:** 431-437.

144. Remeseiro B, Bolon-Canedo V, Peteiro-Barral D, Alonso-Betanzos A, Guijarro-Berdinas B, Mosquera A *et al.* A methodology for improving tear film lipid layer classification. *IEEE journal of biomedical and health informatics* 2014; **18**(4)**:** 1485-1493.

145. Guillon JP. Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 1998; **21 Suppl 1:** S31-40.

146. Guillon JP. Use of the Tearscope Plus and attachments in the routine examination of the marginal dry eye contact lens patient. *Advances in experimental medicine and biology* 1998; **438:** 859-867.

147. Korb DR, Baron DF, Herman JP, Finnemore VM, Exford JM, Hermosa JL *et al.* Tear film lipid layer thickness as a function of blinking. *Cornea* 1994; **13**(4)**:** 354-359.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

148. Guillon JP. Abnormal lipid layers. Observation, differential diagnosis, and classification. *Advances in experimental medicine and biology* 1998; **438:** 309-313.

149. Ban Y, Ogawa Y, Goto E, Uchino M, Terauchi N, Seki M *et al.* Tear function and lipid layer alterations in dry eye patients with chronic graft-vs-host disease. *Eye* 2009; **23**(1)**:** 202-208.

150. Goto E, Tseng SC. Differentiation of lipid tear deficiency dry eye by kinetic analysis of tear interference images. *Archives of ophthalmology* 2003; **121**(2)**:** 173-180.

151. Lee PK, Chung JL, Kim DR, Yoon YC, Yang S, Whang WJ *et al.* Categorization of Meibomian Gland Dysfunction Using Lipid Layer Thickness and Meibomian Gland Dropout in Dry Eye Patients: A Retrospective Study. *Korean journal of ophthalmology : KJO* 2024; **38**(1)**:** 64-70.

152. Ren Y, Wen H, Bai F, Huang B, Wang Z, Zhang S *et al.* Comparison of deep learning-assisted blinking analysis system and Lipiview interferometer in dry eye patients: a cross-sectional study. *Eye and vision* 2024; **11**(1)**:** 7.

153. Finis D, Pischel N, Schrader S, Geerling G. Evaluation of lipid layer thickness measurement of the tear film as a diagnostic tool for Meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2013; **32**(12)**:** 1549-1553.

154. Kim WJ, Ahn YJ, Kim MH, Kim HS, Kim MS, Kim EC. Lipid layer thickness decrease due to meibomian gland dysfunction leads to tear film instability and reflex tear secretion. *Annals of medicine* 2022; **54**(1)**:** 893-899.

155. Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2012; **89**(5)**:** E760-769.

156. Fineide F, Arita R, Utheim TP. The role of meibography in ocular surface diagnostics: A review. *The ocular surface* 2021; **19:** 133-144.

157. Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008; **115**(5)**:** 911-915.

158. Pult H, Riede-Pult BH. Non-contact meibography: keep it simple but effective. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2012; **35**(2)**:** 77-80.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

159. Arita R, Minoura I, Morishige N, Shirakawa R, Fukuoka S, Asai K *et al.* Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction. *American journal of ophthalmology* 2016; **169:** 125-137.

160. Pult H, Riede-Pult BH, Nichols JJ. Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2012; **89**(3)**:** E310-315.

161. Arita R, Suehiro J, Haraguchi T, Shirakawa R, Tokoro H, Amano S. Objective image analysis of the meibomian gland area. *The British journal of ophthalmology* 2014; **98**(6)**:** 746-755.

162. Pult H. Relationships Between Meibomian Gland Loss and Age, Sex, and Dry Eye. *Eye & contact lens* 2018; **44 Suppl 2:** S318-S324.

163. Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye* 1991; **5 (Pt 4):** 395-411.

164. Singh RB, Liu L, Anchouche S, Yung A, Mittal SK, Blanco T *et al.* Ocular redness - I: Etiology, pathogenesis, and assessment of conjunctival hyperemia. *The ocular surface* 2021; **21:** 134-144.

165. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI *et al.* The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; **52**(4)**:** 2006-2049.

166. Schulze MM, Hutchings N, Simpson TL. Grading bulbar redness using cross-calibrated clinical grading scales. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; **52**(8)**:** 5812-5817.

167. Terry RL, Schnider CM, Holden BA, Cornish R, Grant T, Sweeney D *et al.* CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 1993; **70**(3)**:** 234-243.

168. Sorbara L, Simpson T, Duench S, Schulze M, Fonn D. Comparison of an objective method of measuring bulbar redness to the use of traditional grading scales. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2007; **30**(1)**:** 53-59.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

169. Peterson RC, Wolffsohn JS. Sensitivity and reliability of objective image analysis compared to subjective grading of bulbar hyperaemia. *The British journal of ophthalmology* 2007; **91**(11)**:** 1464-1466.

170. Zhao WJ, Duan F, Li ZT, Yang HJ, Huang Q, Wu KL. Evaluation of regional bulbar redness using an image-based objective method. *International journal of ophthalmology* 2014; **7**(1)**:** 71-76.

171. Wu S, Hong J, Tian L, Cui X, Sun X, Xu J. Assessment of Bulbar Redness with a Newly Developed Keratograph. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2015; **92**(8)**:** 892-899.

172. Schulze MM, Ng A, Yang M, Panjwani F, Srinivasan S, Jones LW *et al.* Bulbar Redness and Dry Eye Disease: Comparison of a Validated Subjective Grading Scale and an Objective Automated Method. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2021; **98**(2)**:** 113-120.

173. Miller KL, Walt JG, Mink DR, Satram-Hoang S, Wilson SE, Perry HD *et al.* Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Archives of ophthalmology* 2010; **128**(1)**:** 94-101.

174. Tavakoli A, Markoulli M, Flanagan J, Papas E. The validity of point of care tear film osmometers in the diagnosis of dry eye. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2022; **42**(1)**:** 140-148.

175. Garcia-Resua C, Pena-Verdeal H, Remeseiro B, Giraldez MJ, Yebra-Pimentel E. Correlation between tear osmolarity and tear meniscus. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2014; **91**(12)**:** 1419-1429.

176. Benelli U, Nardi M, Posarelli C, Albert TG. Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2010; **33**(2)**:** 61-67.

177. Versura P, Campos EC. TearLab(R) Osmolarity System for diagnosing dry eye. *Expert review of molecular diagnostics* 2013; **13**(2)**:** 119-129.

178. Niedernolte B, Trunk L, Wolffsohn JS, Pult H, Bandlitz S. Evaluation of tear meniscus height using different clinical methods. *Clinical & experimental optometry* 2021; **104**(5)**:** 583-588.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

179. Garcia-Resua C, Santodomingo-Rubido J, Lira M, Giraldez MJ, Vilar EY. Clinical assessment of the lower tear meniscus height. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2009; **29**(5)**:** 487-496.

180. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 2012; **9**(7)**:** 671-675.

181. 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. *European journal of ophthalmology* 2010; **20**(5)**:** 819-824.

182. Zhu K, Xie W, Ying J, Yao Y. [Evaluation of tear film and meibomian gland function in dry eye patients using Keratograph 5M]. *Zhejiang da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Zhejiang University Medical sciences* 2016; **45**(4)**:** 422-428.

183. Pult H, Riede-Pult B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2013; **36**(1)**:** 22-27.

184. Zhao S, Le Q. Analysis of the first tear film break-up point in Sjogren's syndrome and non-Sjogren's syndrome dry eye patients. *BMC ophthalmology* 2022; **22**(1)**:** 1.

185. Chen LL, Chen ZL, Xu GH, Zhang LQ. [Evaluation of the tear film function in diabetic patients using the Keratograph 5M]. *[Zhonghua yan ke za zhi] Chinese journal of ophthalmology* 2018; **54**(10)**:** 762-766.

186. Begley CG, Himebaugh N, Renner D, Liu H, Chalmers R, Simpson T *et al.* Tear breakup dynamics: a technique for quantifying tear film instability. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2006; **83**(1)**:** 15-21.

187. Tong L, Teng LS. Review of Literature on Measurements of Non-invasive Break Up Times, Lipid Morphology and Tear Meniscal Height Using Commercially Available Hand-held Instruments. *Current eye research* 2018; **43**(5)**:** 567-575.

188. Armstrong RA, Davies LN, Dunne MC, Gilmartin B. Statistical guidelines for clinical studies of human vision. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2011; **31**(2)**:** 123-136.

189. Armstrong RA. Recommendations for analysis of repeated-measures designs: testing and correcting for sphericity and use of manova and mixed model analysis.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians 2017; **37**(5)**:** 585-593.

190. Armstrong RA, Slade SV, Eperjesi F. An introduction to analysis of variance (ANOVA) with special reference to data from clinical experiments in optometry. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2000; **20**(3)**:** 235-241.

191. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; **1**(8476)**:** 307-310.

192. Carkeet A. Exact parametric confidence intervals for Bland-Altman limits of agreement. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 2015; **92**(3)**:** e71-80.

193. Armstrong RA. When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2014; **34**(5)**:** 502-508.

194. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian journal of internal medicine* 2013; **4**(2)**:** 627-635.

195. Nahm FS. Receiver operating characteristic curve: overview and practical use for clinicians. *Korean journal of anesthesiology* 2022; **75**(1)**:** 25-36.

196. Armstrong RA. Statistical guidelines for the analysis of data obtained from one or both eyes. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians* 2013; **33**(1)**:** 7-14.

197. Ray WA, O'Day DM. Statistical analysis of multi-eye data in ophthalmic research. *Investigative ophthalmology & visual science* 1985; **26**(8)**:** 1186-1188.

198. Patel VD, Watanabe JH, Strauss JA, Dubey AT. Work productivity loss in patients with dry eye disease: an online survey. *Current medical research and opinion* 2011; **27**(5)**:** 1041-1048.

199. Nilsen C, Graae Jensen P, Gundersen M, Utheim OA, Gjerdrum B, Gundersen KG *et al.* The Significance of Inter-Eye Osmolarity Difference in Dry Eye Diagnostics. *Clinical ophthalmology* 2023; **17:** 829-835.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

200. Wolffsohn JS, Wang MTM, Vidal-Rohr M, Menduni F, Dhallu S, Ipek T *et al.* Demographic and lifestyle risk factors of dry eye disease subtypes: A cross-sectional study. *The ocular surface* 2021; **21:** 58-63.

201. Cutrupi F, De Luca A, Di Zazzo A, Micera A, Coassin M, Bonini S. Real Life Impact of Dry Eye Disease. *Seminars in ophthalmology* 2023**:** 1-13.

202. Tsubota K, Yokoi N, Watanabe H, Dogru M, Kojima T, Yamada M *et al.* A New Perspective on Dry Eye Classification: Proposal by the Asia Dry Eye Society. *Eye & contact lens* 2020; **46 Suppl 1**(1)**:** S2-S13.

203. Asiedu K, Dzasimatu SK, Kyei S. Clinical subtypes of dry eye in youthful clinical sample in Ghana. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 2019; **42**(2)**:** 206-211.

204. Ji YW, Seong H, Seo JG, Park SY, Alotaibi M, Choi M *et al.* Evaluation of dry eye subtypes and characteristics using conventional assessments and dynamic tear interferometry. *The British journal of ophthalmology* 2022; **106**(12)**:** 1648-1654.

205. Basilious A, Xu CY, Malvankar-Mehta MS. Dry eye disease and psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. *European journal of ophthalmology* 2022; **32**(4)**:** 1872-1889.

206. Barabino S, Labetoulle M, Rolando M, Messmer EM. Understanding Symptoms and Quality of Life in Patients With Dry Eye Syndrome. *The ocular surface* 2016; **14**(3)**:** 365-376.

207. Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Current eye research* 1996; **15**(6)**:** 653-661.

208. Karampatakis V, Karamitsos A, Skriapa A, Pastiadis G. Comparison between normal values of 2- and 5-minute Schirmer test without anesthesia. *Cornea* 2010; **29**(5)**:** 497-501.

209. Yokoi N, Kinoshita S, Bron AJ, Tiffany JM, Sugita J, Inatomi T. Tear meniscus changes during cotton thread and Schirmer testing. *Investigative ophthalmology & visual science* 2000; **41**(12)**:** 3748-3753.

210. Wang Y, Xu Z, Gong Q, Ren W, Chen L, Lu F *et al.* The Role of Different Tear Volume Detection Methods in the Evaluation and Diagnosis of Mild Dry Eye Disease. *Translational vision science & technology* 2022; **11**(3)**:** 15.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

211. Singh A, Vanathi M, Kishore A, Gupta N, Tandon R. Evaluation of strip meniscometry, tear meniscus height and depth in the diagnosis of dry eye disease in asian Indian eyes. *The ocular surface* 2019; **17**(4)**:** 747-752.

212. Qiu X, Gong L, Lu Y, Jin H, Robitaille M. The diagnostic significance of Fourier-domain optical coherence tomography in Sjogren syndrome, aqueous tear deficiency and lipid tear deficiency patients. *Acta ophthalmologica* 2012; **90**(5)**:** e359-366.

213. Imamura H, Tabuchi H, Nakakura S, Nagasato D, Baba H, Kiuchi Y. Usability and reproducibility of tear meniscus values generated via swept-source optical coherence tomography and the slit lamp with a graticule method. *International ophthalmology* 2018; **38**(2)**:** 679-686.

214. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *The ocular surface* 2003; **1**(3)**:** 107-126.

215. Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Experimental eye research* 2004; **78**(3)**:** 347-360.

216. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 1997; **74**(1)**:** 8-13.

217. Chou YB, Fan NW, Lin PY. Value of lipid layer thickness and blinking pattern in approaching patients with dry eye symptoms. *Canadian journal of ophthalmology Journal canadien d'ophtalmologie* 2019; **54**(6)**:** 735-740.

218. Eom Y, Lee JS, Kang SY, Kim HM, Song JS. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *American journal of ophthalmology* 2013; **155**(6)**:** 1104-1110 e1102.

219. Rolando M, Merayo-Lloves J. Management Strategies for Evaporative Dry Eye Disease and Future Perspective. *Current eye research* 2022; **47**(6)**:** 813-823.

220. Lienert JP, Tarko L, Uchino M, Christen WG, Schaumberg DA. Long-term Natural History of Dry Eye Disease from the Patient's Perspective. *Ophthalmology* 2016; **123**(2)**:** 425-433.

221. Lo C, Yang M, Rootman D. Natural history of inflammatory and non-inflammatory dry eye in thyroid eye disease. *Orbit* 2021; **40**(5)**:** 389-393.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

222. Zhao M, Yu Y, Ying GS, Asbell PA, Bunya VY, Dry Eye A *et al.* Age Associations with Dry Eye Clinical Signs and Symptoms in the Dry Eye Assessment and Management (DREAM) Study. *Ophthalmology science* 2023; **3**(2)**:** 100270.

223. Barabino S. Is dry eye disease the same in young and old patients? A narrative review of the literature. *BMC ophthalmology* 2022; **22**(1)**:** 85.

224. Truong S, Cole N, Stapleton F, Golebiowski B. Sex hormones and the dry eye. *Clinical & experimental optometry* 2014; **97**(4)**:** 324-336.

225. Stapleton F, Abad JC, Barabino S, Burnett A, Iyer G, Lekhanont K *et al.* TFOS lifestyle: Impact of societal challenges on the ocular surface. *The ocular surface* 2023; **28:** 165-199.

226. Amiri M, Alavinia M, Singh M, Kumbhare D. Pressure Pain Threshold in Patients With Chronic Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American journal of physical medicine & rehabilitation* 2021; **100**(7)**:** 656-674.

227. Xue W, Zhu MM, Zhu BJ, Huang JN, Sun Q, Miao YY *et al.* Long-term impact of dry eye symptoms on vision-related quality of life after phacoemulsification surgery. *International ophthalmology* 2019; **39**(2)**:** 419-429.

228. Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, Brock JA, Begley CG, Bereiter DA *et al.* TFOS DEWS II pain and sensation report. *The ocular surface* 2017; **15**(3)**:** 404-437.

229. Shigeyasu C, Yamada M, Akune Y, Tsubota K. Diquafosol sodium ophthalmic solution for the treatment of dry eye: clinical evaluation and biochemical analysis of tear composition. *Japanese journal of ophthalmology* 2015; **59**(6)**:** 415-420.

230. Kim W, Woo IH, Eom Y, Song JS. Short-term changes in tear osmolarity after instillation of different osmolarity eye drops in patients with dry eye. *Scientific reports* 2023; **13**(1)**:** 11012.

231. Eom Y, Kim HM. Clinical effectiveness of diquafosol ophthalmic solution 3% in Korean patients with dry eye disease: a multicenter prospective observational study. *International journal of ophthalmology* 2021; **14**(10)**:** 1518-1526.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

9 ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Representación de LFU integrada y su inervación de Pflugfelder et al.5 Con permiso de la editorial Elsevier. 17

Figura 2– Capas de la película lagrimal: Capa Lipídica (A), Capa Acuosa (B) y Capa Mucínica (C). 18

Figura 3– (A) Modelo tradicional de 3 capas. (B) Modelo bicapa. 18

Figura 4– Esquema de los diferentes estados de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). 23

Figura 5– Esquema breve del "Ciclo vicioso" de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). ADDE: Ojo seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). 25

Figura 6– Esquema simplificado del algoritmo propuesto por el TFOS DEWS II. DED: Dry Eye Disease. DEQ-5: Dry Eye Questionnaire-5. OSDI: Ocular Surface Index. MGD: Meibomian Gland Disease. NBUT: Non-invasive Break Up time. TFBUT: Tear Fluorescein Break-Up time. ADDE: Aqueous Deficience Dry Eye. EDE: Evaporative Dry Eye. 28

Figura 7- Tinción conjuntival con el tinte vital verde de lisamina zona temporal (A) y zona Nasal (B). 33

Figura 8– Observación de una tinción corneal empleando el tinte vital de fluoresceína. 34

Figura 9– Meniscometría mediante lámpara de hendidura. 35

Figura 10 – Colocación de la tira de Schirmer. 36

Figura 11 - Colocación del hilo rojo de Fenol. 37

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 12– Imagen realizada mediante interferometría de la capa lipídica de un paciente.....38

Figura 13– Imagen mediante meibografía del tarso inferior (A) y del tarso superior (B). 39

Figura 14 – Meiboscale a partir de meibografía propuesta por Pult et al.155 Con permiso de la editorial Wolkers Kluwer. 40

Figura 15 – Imagen de la hiperemia conjuntival observada mediante lámpara de hendidura..42

Figura 16 – Escala BHVI de gradación de la hiperemia conjuntival. BHVI: Brian Holden Vision Institute. Con permiso de Brian Holden Vision Institute. 42

Figura 17 - Cabecera del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular".....48

Figura 18 - Cabecera del "Cuestionario de Evolución de sequedad ocular".....48

Figura 19 - Elementos del dispositivo TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos): Base de carga (A), dispositivo porta tarjetas de captura (B), tarjeta de captura lagrimal y su envase (C), tarjeta de verificación (D).....49

Figura 20 - Colocación del paciente y recogida de la muestra con el instrumento TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos).....50

Figura 21 – Lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) y la cámara Topcon DC-4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) acoplada. 51

Figura 22 - Visualización del menisco lagrimal central con la iluminación lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón).....52

Figura 23 - Proceso de medida del TMH-SL empleando el software ImageJ. TMH-SL: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Slit Lamp).....53

Figura 24 - Dispositivo Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) y lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) con este dispositivo acoplado.....54

Figura 25 - Visualización del TMH central con la iluminación del Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido). TMH: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height).....55

Figura 26 - Proceso de medida del TMH-Tc empleando el software ImageJ. TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height with Tearscope). 56

Figura 27 - Esquema básico de los patrones lipídicos interferenciales de Guillon (LLP-G): A: LLP Marmóreo abierto; B: LLP Marmóreo Cerrado; C: LLP Fluido; D: LLP Amorfo; E: LLP Coloreado. LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern).....57

Figura 28 - Esquema de características del color de los patrones lipídicos (LLP-C): A: LLP Gris; B: LLP Blanco; C: LLP Amarillo; D: LLP Marrón o superior. LLP: Lipid Layer Pattern. 58

Figura 29 - OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania). 59

USC DE COMPOSTELA

Figura 30 - Observación de las Glándulas de Meibomio tras eversión del párpado inferior mediante el Keratograph 5M. 60

Figura 31- Medida de MGLA mediante el software ImageJ. A (área total del GM). B (Área de GM) MGLA: Área de Perdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). MG:Glándulas de Meibomio 61

Figura 32 – Tiras de fluoresceína y solución salinas empleadas respectivamente. 62

Figura 33 – Software VirtualDub: selección del fotograma en el cual se produce el TFBUT. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). 63

Figura 34 - Secuencia de fotogramas proporcionados por el software VirtualDub para el cálculo del MBI. MBI: Intervalo Máximo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval). 64

Figura 35 - – Esquema Oxford para la clasificación de la tinción corneal. Grado 0: Tinción ausente; Grado 1: Tinción mínima; Grado 2: Tinción media; Grado 3: Tinción moderada; Grado 4: Tinción marcada, Grado 5: Tinción severa. 65

Figura 36 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE frente a EDE). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic. 73

Figura 37 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE Leve-Moderado frente a ADDE Moderado-Severo). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic. 75

Figura 38 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a EDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic) 81

Figura 39 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a MDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic)..... 82

Figura 40 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (EDE frente a MDE). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). MDE:

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic). 84

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

10 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 - Escala de gradación propuesta por Arita et al para la evaluación de la MGD. MG: Meibomian Glands, MGD: Meibomian Gland Dysfunction. 41

Tabla 2- Escala de clasificación de calidad y capacidad de expresión de las MG propuesta por Bron et al. MG: Meibomian Glands. 41

Tabla 3 -Grupos en los que se dividió la muestra en función de su TMH-SL y su LLP-G, así como los subgrupos en función de la gravedad del grupo ADDE. ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueos Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry E Eye). LLP-G: Patrón lipídico interferencial según a escala de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). TMH-SL: Altura del menisco lagrimal medida con lámpara de hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). 69

Tabla 4 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TMH-SL: Altura de Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). 70

Tabla 5 - Estadísticos descriptivos de la muestra total del presente estudio (n=200). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetro paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos. 71

Tabla 6 -Estadísticos descriptivos para os grupos ADDE (n=79) y EDE (n=66). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con

USC DE COMPOSTELA

Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados para los parámetros no paramétricos. † Test T de Student. ‡ Test U de Mann-Whitney. 72

Tabla 7 - Estadísticos descriptivos para os grupos ADDE Leve-Moderado (n=64) y ADDE Moderado-Severo (n=15). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range) OSDI: Ocular: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-Up Time). TMH-SL: Altura del Menisco Lagrimal con Lámpara de Hendidura (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos. †Prueba t-test. ‡ Test U de Mann-Whitney. 73

Tabla 8 - Grupos de clasificación de la muestra siguiendo la clasificación proporcionada por el TFOS DEWS II para los subtipos de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). 76

Tabla 9 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el Esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el Esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). 77

Tabla 10 - Estadísticos descriptivos de la muestra total del presente estudio (n=240). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Break-Up Time). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme. LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos.....79

Tabla 11 - Estadísticos descriptivos de los diferentes grupos del presente estudio; ADDE (n=91), EDE (n=103) y MDE(n=46). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). DE: Desviación Estándar. IQR: Rango Intercuartílico (Intercuartile Range). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína

(Fluorescein Break-Up Time). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). MGLA: Área de Pérdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo la Escala de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo la Escala de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). *Media y DE mostrados en parámetros paramétricos **Mediana e IQR mostrados en parámetros no paramétricos. † Test de Kruskall-Wallis. ‡ Test ANOVA para muestras repetidas. 80

Tabla 12 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). 86

Tabla 13 - – Criterios diagnósticos propuestos por el TFOS DEWS II. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). 87

Tabla 14 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 1 (seguimiento del grupo durante 4 años). n = 26. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). 88

Tabla 15 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 2 (seguimiento del grupo durante 6 años). n = 15. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). 89

Tabla 16 - Tabla cruzada del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y en la segunda visita para el Grupo 3 (seguimiento del grupo durante 8 años). n = 31. DED: Dry Eye Disease. 89

Tabla 17 - Tabla cruzada del del número de casos entre el diagnóstico del estado de gravedad en la primera y la segunda visita para toda la muestra reclutada. n = 72. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). 90

Tabla 18 - Parámetros evaluados en cada una de las pruebas realizadas en el examen ocular, junto con el material y método empleado y su categorización. OSDI: Ocular Surface Disease Index. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time). MBI: Máximo Intervalo de parpadeo (Maximum Blink Interval). 92

Tabla 19 - Datos demográficos, estadísticas descriptivas y análisis de las diferencias entre los grupos en la sesión basal. Datos demográficos, estadísticas descriptivas y análisis de las diferencias entre grupos en la sesión basal. * Estadísticamente significativo ($p \leq 0,05$). TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Break-Up Time). IQR = Rango Intercuartílico (Interquartile Range). MBI: Intervalo Máximo ente Parpadeos (Maximum Blink Interval). OSDI: Ocular Surface Questionnaire Index; DE: Desviación Estándar. S: segundos. 94

Tabla 20 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre las puntuaciones del test OSDI entre los participantes del Grupo 1 (n = 33), Grupo 2 (n =18) y del Grupo 3 (n = 37). Los

USC DE COMPOSTELA

valores de p se determinaron mediante el t-test para muestras. * Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). OSDI: Ocular Surface Disease Index. DE: Desviación Estándar 95

Tabla 21 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias para los valores de Osmolaridad y Osmolaridad |OD-OS| en mOsm/l DI entre los participantes del Grupo 1 (n = 34), Grupo 2 (n =24) y del Grupo 3 (n = 45). Se incluyeron ambos ojos en el análisis estadístico. Los valores de p se determinaron mediante el T-test para muestras relacionadas. *Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). DE: Desviación Estándar. 96

Tabla 22 – Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre sesiones de los valores medios de TFBUT y MBI de los participantes del Grupo 1 (n = 50), Grupo 2 (n =26) y del Grupo 3 (n = 56). Se incluyeron ambos ojos en el análisis estadístico. Los valores p se determinaron mediante el t-test para muestras relacionadas. *Estadísticamente significativo p ≤ 0,017 (ajuste de Bonferroni). FBUT: Tempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Ter Film Break-Up Time). MBI: Intervalo Máximo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval) DE: Desviación Estándar. S: segundos. 97

Tabla 23 - Estadísticos descriptivos y análisis de las diferencias entre sesiones de los valores de Tinciones Corneales de los participantes del Grupo 1 (n = 48), Grupo 2 (n = 28) y del Grupo 3 (n = 55). Ambos ojos fueron incluidos en el análisis estadístico. Los Los valores p se determinaron mediante tablas cruzadas con la prueba de Homogeneidad Marginal. *p estadísticamente significativo ≤ 0.017 (ajuste de Bonferroni. DE: Desviación Estándar. 98

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

11 ANEXOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO I: CUESTIONARIO MCMONNIES

Cuestionario de ollo seco (Mc Monnies)

Nome: _____ **Data:** ___/___/___

Por favor, marque cunha cruz a opción correcta:

Home: ☐ Muller: ☐

Idade: Menos de 25 anos ☐ 25- 45 anos ☐ Máis de 45 anos ☐

Actualmente usuario de lentes de contacto?

non☐ si, lentes de contacto ríxidas ☐ si, lentes de contacto blandas☐

1) Padece algún dos seguintes síntomas oculares?:
   Picor: ☐ Sequidade: ☐ Sensación de arenilla:☐
   Queimazón: ☐ Molestia/ dor: ☐
   Con que frecuencia?:
   Sempre: ☐ Case sempre: ☐ Algunhas veces:☐ Nunca: ☐
2) Prescribíronlle algunha vez tratamento para ollo seco?:
   Si: ☐ Non: ☐ Non o sei: ☐ Cal?:☐
3) Padece artrite?
   Si: ☐ Non:☐ Non o sei:☐
4) Ten problemas de tiroides?
   Si: ☐ Non: ☐ Non o sei: ☐
5) Ten problemas de sequidade das mucosas (nariz, boca, garganta, peito ou vaxina)?
   Nunca: ☐ As veces: ☐ A miúdo: ☐ Constantemente: ☐

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6) Cree que os seus ollos son especialmente sensibles o fume, aire acondicionado ou calefacción?:

Si: ☐ Non: ☐ As veces: ☐

7) Póñenselle os ollos moi vermellos e irritados o nadar en piscinas?

Si: ☐ Non: ☐ As veces: ☐ No aplicable: ☐

8) Toma algún medicamento?:

Antihistamínicos (gotas ou pastillas): ☐

Diuréticos: ☐

Tranquilizantes: ☐

Pastillas para durmir: ☐

Anticonceptivos orais: ☐

Pastillas para a presión do sangue: ☐

Pastillas para problemas dixestivos ou intestinais: ☐

Outro:☐ Cal?

9) Están os seus ollos secos e irritados o día despois de beber alcohol?

Si: ☐ Non: ☐ As veces: ☐ Non aplicable:☐

10) Sabe si durme cos ollos abertos?

Si: ☐ Non: ☐ As veces: ☐ Non o sei:☐

11) Moléstanlle os ollos o levantarse pola mañá?:

Si: ☐ No: ☐ A veces: ☐

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A continuación presentaremos una serie de síntomas que clasificará según la gravedad que tuvo durante la última semana según la siguiente escala:

0: No tiente síntoma

1: Pocas veces tiene ese síntoma

2: A veces tiene ese síntoma pero no le molesta

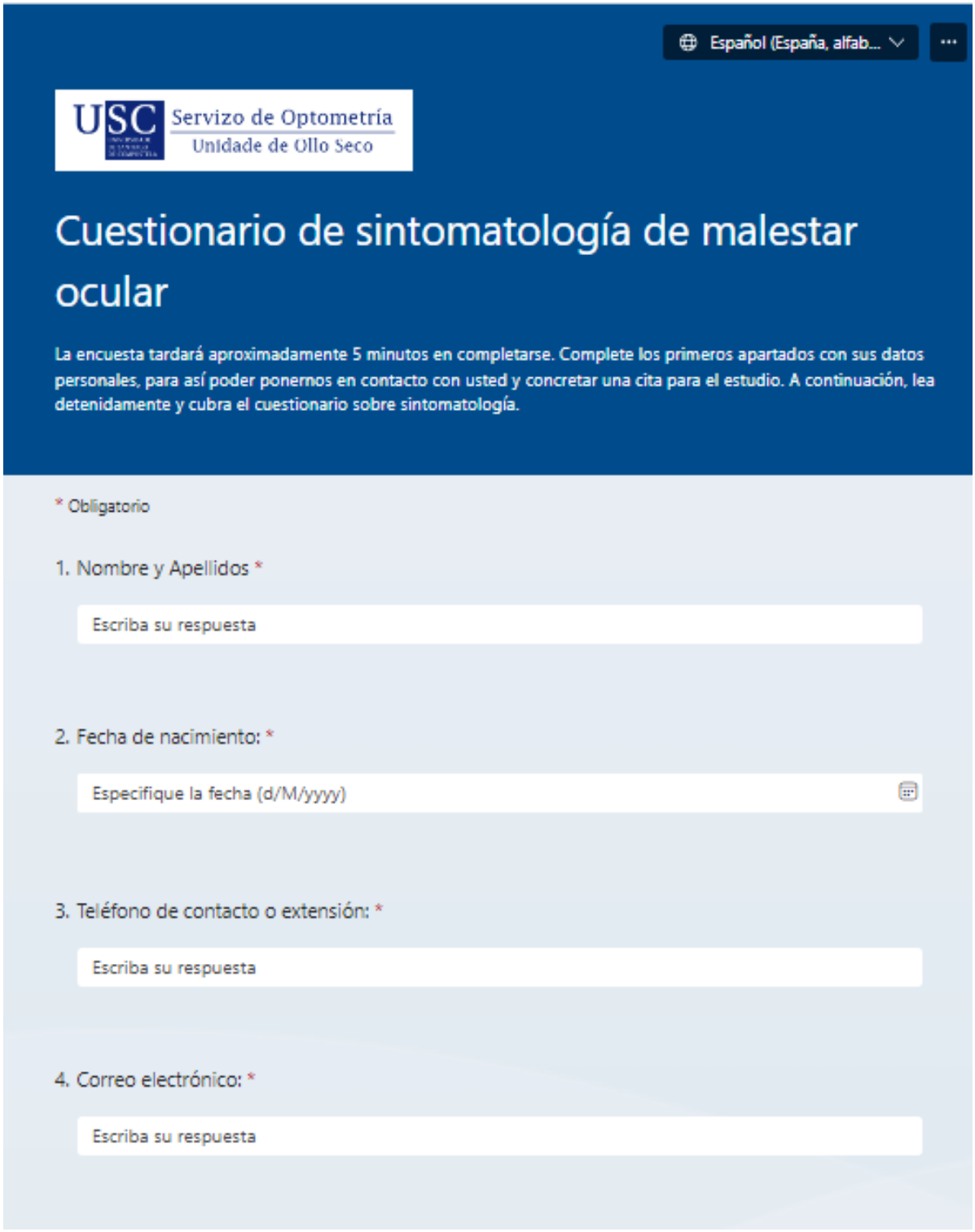
3: Frecuentemente tiene ese síntoma, le molesta, pero no interfiere en sus actividades.

4: Frecuentemente tiene ese síntoma, le molesta e interfiere en sus actividades

Enrojecimiento ocular
Borde de párpados inflamados
Escamas o costras en párpados
Ojos pegados al levantarse
Secreciones (legañas)
Sequedad de ojo
Sensación de arenilla
Sensación de cuerpo extraño
Ardor/Quemazón
Picor
Malestar de ojo
Dolor agudo (pinchazos en los ojos)
Lagrimeo
Ojos llorosos
Sensibilidad a la luz (fotofobia)
Visión borrosa transitoria que mejora con parpadeo
Cansancio de ojos o párpados
Sensación de pesadez ocular o palpebral

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO II: CUESTIONARIO DE SINTOMATOLOGÍA DE MALESTAR OCULAR



Español (España, alfab...

USC Servizo de Optometría
Unidade de Ollo Seco

Cuestionario de sintomatología de malestar ocular

La encuesta tardará aproximadamente 5 minutos en completarse. Complete los primeros apartados con sus datos personales, para así poder ponernos en contacto con usted y concretar una cita para el estudio. A continuación, lea detenidamente y cubra el cuestionario sobre sintomatología.

* Obligatorio

1. Nombre y Apellidos *

Escriba su respuesta

2. Fecha de nacimiento: *

Especifique la fecha (d/M/yyyy)

3. Teléfono de contacto o extensión: *

Escriba su respuesta

4. Correo electrónico: *

Escriba su respuesta

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5. ¿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
Los ojos sensibles a la luz	○	○	○	○	○
Ojos con sensación arenosa	○	○	○	○	○
Ojos doloridos o inflamados	○	○	○	○	○
Visión borrosa	○	○	○	○	○
Visión pobre, de mala calidad, que tiene que realizar más parpadeos (no relacionado con la graduación)	○	○	○	○	○

6. ¿Ha experimentado problema con sus ojos que le impiden 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	No sabe/ No contesta
Leer	○	○	○	○	○	○
Conducir	○	○	○	○	○	○
Trabajar con el ordenador	○	○	○	○	○	○
Ver la televisión	○	○	○	○	○	○

7. ¿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	No sabe/ No contesta
Condiciones de viento	○	○	○	○	○	○
Zonas de baja humedad o secas (ambiente controlado ej. hospitales)	○	○	○	○	○	○
Zonas con aire acondicionado (ej. oficinas)	○	○	○	○	○	○

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8. ¿Cuántas horas de media emplea al día delante de dispositivos digitales (ordenadores, smartphones, etc.)? *

- ○ Menos de 4 horas
- ○ Entre 4 y 6 horas
- ○ Entre 6 y 8 horas
- ○ Más de 8 horas

9. Responda las siguientes preguntas: *

	Si	No	No sabe / No contesta
¿Es usuario de lente de contacto de forma habitual o esporádica?	○	○	○
Usa algún suplemento lagrimal (lágrima artificial, suero fisiológico, etc.)	○	○	○
¿Padece artritis reumatoide?	○	○	○
¿Padece problemas de tiroides?	○	○	○

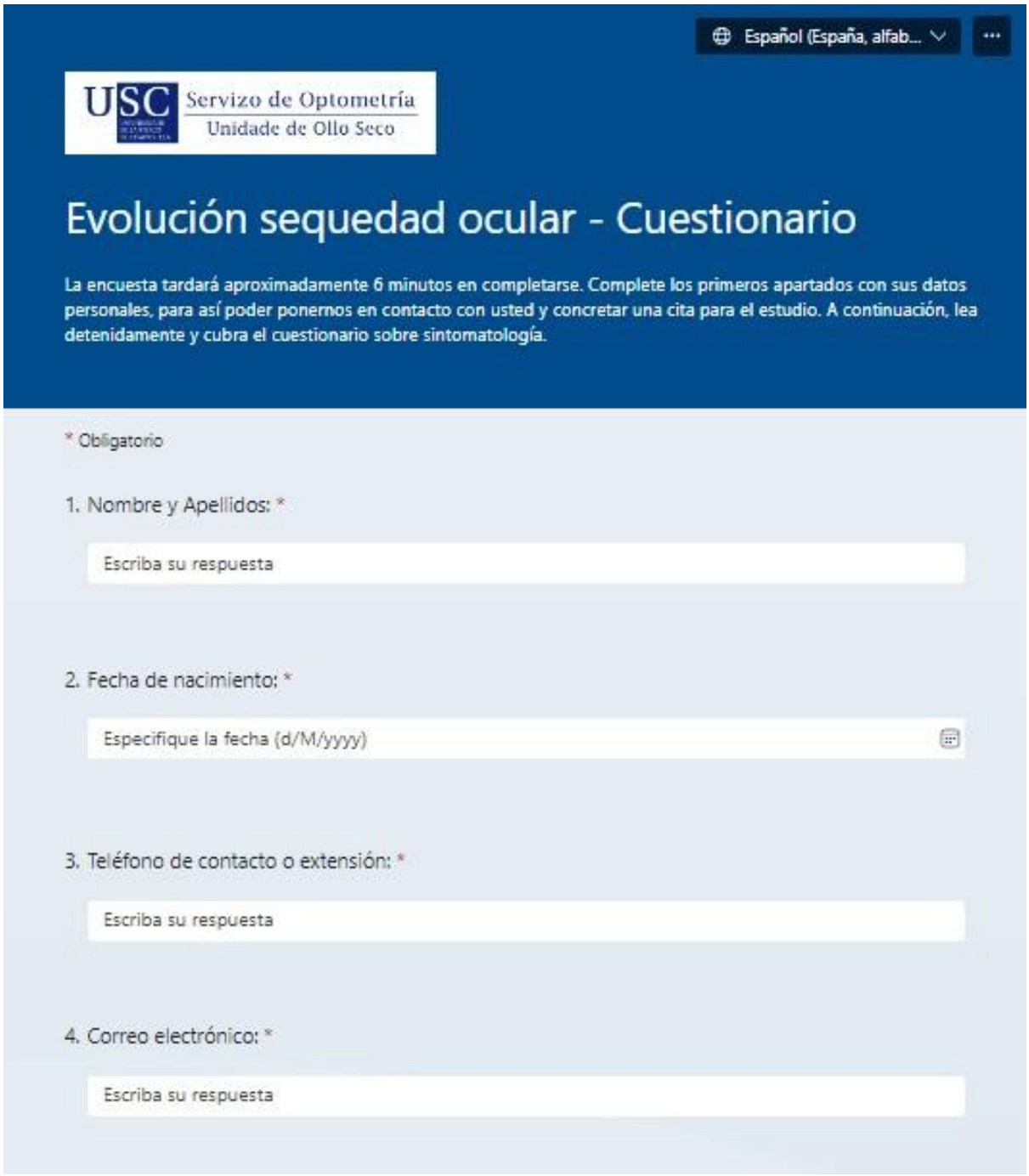
10. Indique si toma alguno de los siguientes medicamentos: *

	Si	No	No sabe/ No contesta
Antihistamínicos	○	○	○
Diuréticos	○	○	○
Tranquilizantes o pastillas para dormir	○	○	○
Anticonceptivos orales	○	○	○
Pastillas para la tensión sanguínea	○	○	○
Pastillas para problemas digestivos o intestinales	○	○	○

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Enviar

ANEXO III: CUESTIONARIO DE EVOLUCIÓN DE SINTOMATOLOGÍA DE MALESTAR OCULAR



5. ¿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
Los ojos sensibles a la luz	○	○	○	○	○
Ojos con sensación arenosa	○	○	○	○	○
Ojos doloridos o inflamados	○	○	○	○	○
Visión borrosa	○	○	○	○	○
Visión pobre, de mala calidad, que tiene que realizar más parpadeos (no relacionado con la graduación)	○	○	○	○	○

6. ¿Ha experimentado problema con sus ojos que le impiden 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	No sabe/ No contesta
Leer	○	○	○	○	○	○
Conducir	○	○	○	○	○	○
Trabajar con el ordenador	○	○	○	○	○	○
Ver la televisión	○	○	○	○	○	○

7. ¿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	No sabe/ No contesta
Condiciones de viento	○	○	○	○	○	○
Zonas de baja humedad o secas (ambiente controlado ej. hospitales)	○	○	○	○	○	○
Zonas con aire acondicionado (ej. oficinas)	○	○	○	○	○	○

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8. ¿Cuántas horas de media emplea al día delante de dispositivos digitales (ordenadores, smartphones, etc.)? *

- ◯ Menos de 4 horas
- ◯ Entre 4 y 6 horas
- ◯ Entre 6 y 8 horas
- ◯ Más de 8 horas

9. Desde su última visita, ¿ha pasado por alguna de las siguientes situaciones? *

	Si	No	No sabe/ No contesta
Ha utilizado de manera constante, esporádica o ha hecho pruebas de adaptación de lentes de contacto	◯	◯	◯
Embarazo	◯	◯	◯
Diagnóstico de nuevas enfermedades sistémicas (ej. Diabetes, Enfermedades tiroideas, Artritis reumatoide, etc.)	◯	◯	◯
Medicaciones o tratamiento pautados de manera temporal (más de 2 meses) o permanente	◯	◯	◯
Accidente con/u hospitalización (más de 24 horas)	◯	◯	◯
Operación o cirugía ocular	◯	◯	◯
Operación o cirugía general	◯	◯	◯
Cambios laborales/hábitos con alto impacto en su estilo de vida	◯	◯	◯

10. Si alguna de las preguntas anteriores es afirmativa, por favor, especificar: [En caso de lentes de contacto o medicaciones/tratamientos; indicar periodo o frecuencia de uso y tipo de lente de contacto, medicación o tratamiento, en la medida de lo posible]

Escriba su respuesta

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Enviar

ANEXO IV: E-MAILS CITA ESTUDIO DE OJO SECO

Cita Revisión Estudio Ojo Seco – Servicio de Optometría

Buenos días,

Entramos en contacto con usted porque figura en nuestra base de datos como pendiente de revisión para una evaluación del estado de la sequedad ocular dentro del Servicio de Optometría de la USC. Necesitamos que nos complete el siguiente cuestionario y en las próximas semanas nos volveremos a dirigir a usted para fijar una fecha de revisión.

https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=LEUNj6S3ZEm4EIw5c3RHe4D82m7Ab_NIqb6YJT-zWl1UOVZMNk4wU0VVWlRZV1VMSDhNQUlLQjU2MSQlQCN0PWcu

Un cordial saludo,

Los datos contenidos en la presente comunicación son confidenciales y se encuentran protegidos por la Ley Orgánica 15/1999, del 13, de protección de datos de carácter personal. En cumplimiento de lo dispuesto en la antes citada Ley se le notifica que el presente mensaje y, en su caso, los ficheros que lleve adjuntos van dirigidos de manera exclusiva a su destinatario y puede contener información confidencial. Si usted no es el destinatario de este mensaje (o la persona responsable de su entrega), se considera advertido de que lo recibió por error, así como la prohibición legal de hacer cualquier tipo de uso, difusión, envío, impresión o copia de este. Si recibió este mensaje por error, por favor, notifíqueselo al remitente y proceda a destruirlo inmediatamente. Así mismo, en cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y en la Ley 34/2002, del 11 de Julio, de Servicios de Información y Comercio Electrónico, le informamos de que sus datos se encuentran en nuestra base de datos para el envío de comunicaciones, formando parte de un fichero informatizado. De la misma forma, le informamos de la posibilidad de ejercer en todo momento los derechos de rectificación, cancelación y oposición, comunicándolo por escrito a este Servicio, en la dirección de correo electrónico o número de teléfono antes indicado.

Servicio de Optometría – Cita Estudio de Ojo Seco

Buenos días,

Nos ponemos nuevamente en contacto con usted para fijar la cita en el Servicio de Optometría dentro del programa de Estudio de Ojo Seco. Para ello, deberá acceder al siguiente enlace, donde tras seleccionar ***Estudo de Ollo Seco*** podrá escoger un día y hora de entre las disponibles. Le recordamos no acudir con sus lentes de contacto el día de la revisión, ya que estas no son compatibles con las pruebas que se van a realizar.

La duración de la cita es aproximadamente de 40 minutos, rogamos la reserve con antelación.

https://outlook.office365.com/owa/calendar/ServiciodeOptometraEstudiodeOjoSeco@usc.es/bookings/

En el siguiente enlace podrá descargar el consentimiento informado y la ley de protección de datos: https://cutt.ly/4j2q50d. Por favor, el día de la cita ***acuda con estos documentos impresos*** y debidamente cumplimentados. El documento de consentimiento informado contiene información sobre el estudio y sólo es necesario que traiga completadas ***las dos últimas hojas***.

Cualquier cuestión no dude en ponerse en contacto con nosotros.

Un cordial saludo,

Los datos contenidos en la presente comunicación son confidenciales y se encuentran protegidos por la Ley Orgánica 15/1999, del 13, de protección de datos de carácter personal. En cumplimiento de lo dispuesto en la antes citada Ley se le notifica que el presente mensaje y, en su caso, los ficheros que lleve adjuntos van dirigidos de manera exclusiva a su destinatario y puede contener información confidencial. Si usted no es el destinatario de este mensaje (o la persona responsable de su entrega), se considera advertido de que lo recibió por error, así como la prohibición legal de hacer cualquier tipo de uso, difusión, envío, impresión o copia de este. Si recibió este mensaje por error, por favor, notifíqueselo al remitente y proceda a destruirlo inmediatamente. Así mismo, en cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y en la Ley 34/2002, del 11 de Julio, de Servicios de Información y Comercio Electrónico, le informamos de que sus datos se encuentran en nuestra base de datos para el envío de comunicaciones, formando parte de un fichero informatizado. De la misma forma, le informamos de la posibilidad de ejercer en todo momento los derechos de rectificación, cancelación y oposición, comunicándolo por escrito a este Servicio, en la dirección de correo electrónico o número de teléfono antes indicado.

ANEXO V: COMITÉ BIOÉTICO

VICERREITORÍA DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN
Oficina de Investigación e Tecnoloxía
Servizo de Convocatorias e Recursos Humanos de I+S
Edificio CACTUS – Campus Vida
15782 Santiago de Compostela
Tel. 981 547 040 - Fax 981 547 077
Correo electrónico: citinfo@usc.es
http://imaisd.usc.es

JOSÉ MANUEL CIFUENTES MARTÍNEZ, PRESIDENTE DO COMITÉ DE BIOÉTICA DA UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA,

INFORMA:

Que o proxecto de investigación con rexistro **USC-08/2021** titulado **"Avaliación dos cambios nos síntomas e signos de pacientes con Ollo Seco tratados con diferentes lágrimas artificiais e hixiene palpebra",** do que é investigadora responsable Dona **Eva Yebra-Pimentel Vilar,** ten sido examinado por o Comité de Bioética desta Universidade, cumprindo o seu protocolo experimental os requisitos éticos esixidos.

Este documento non exime da obtención de permisos ou autorizacións e do cumprimento de outras normativas de aplicación.

Lugo, 22 de marzo de 2021.

ANEXO VI: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

SERVIZO DE OPTOMETRÍA

FACULTADE DE ÓPTICA E OPTOMETRÍA

FOLLA DE INFORMACIÓN AO/Á PARTICIPANTE NUN ESTUDO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO:

Avances na Avaliación do Síndrome de Ollo

INVESTIGADOR:

Eva Yebra-Pimentel Vilar, Catedrática de Escola Universitaria. Directora do Servizo de Optometría, Facultade de Óptica e Óptica e Optometría da USC.

Este documento ten por obxecto ofrecerlle información sobre un **estudo de investigación** no que se lle invita a participar. Este estudo se está a realizar no Servizo de Optometría (Servizo Sanitario da Comunidade Autónoma de Galicia - Nº Rexistro: C-15-00243) da Facultade de Óptica e Optometría da USC e foi aprobado polo Comité de Bioética da USC. O estudo realizarase de conformidade coas normas de Boa Práctica Clínica e segundo os postulados éticos fundamentados na declaración de Helsinki na súa última actualización.

Se decide participar no mesmo, debe recibir información personalizada do investigador, **ler antes este documento** e facer todas as preguntas que precise para comprender os detalles sobre o mesmo. Se así o desexa, pode levar o documento, consultalo con outras persoas, e tomar o tempo necesario para decidir se participar ou non.

A participación neste estudo é completamente **voluntaria**. Vd. pode decidir non participar ou, se acepta facelo, cambiar de parecer retirando o consentimento en calquera momento sen obriga de dar explicacións. Asegurámoslle que esta decisión non afectará á relación cos optometristas do centro nin á asistencia sanitaria á que Vd. ten dereito.

Cal é o propósito do estudo?

Na práctica clínica diaria, no campo da optometría, oftalmoloxía e contactoloxía, utilízanse diferentes técnicas para a avaliación do estado da película lacrimal dos pacientes co fin de valorar diferentes situacións como a intolerancia ao uso de lentes de contacto ou o diagnóstico do ollo seco.

Actualmente un dos maiores retos é dispor de técnicas de avaliación obxectiva da película lacrimal para poder evitar ou minimizar a subxectividade do explorador na valoración e diagnóstico dos pacientes. Esta subxectividade na interpretación das probas clínicas foi sinalada como un dos principais factores a corrixir por diferentes paneis de expertos e reflexado no taller "*International Dry Eye Workshop*" (DEWS II-2017) da Sociedade "*Tear Film Ocular Surface*" (2010).

Existen dous tipos principais de Síndrome de Ollo Seco (SOS): SOS hiposecretorio (insuficiencia na produción de lágrimas) e SOS evaporativo (excesiva evaporación da película lacrimal). O SOS evaporativo é o máis prevalente de todos os tipos e a súa causa principal é a Disfunción das Glándulas de Meibomio (DGM), onde a capa lipídica, encargada de retardar a evaporación lacrimal e secretada por estas glándulas, vese alterada.

O obxectivo principal deste proxecto de investigación é a avaliación do SOS evaporativo e da DGM, analizando os síntomas e signos asociados a estas condicións. Conseguindo obxectivizar os tests clínicos mais usados no diagnóstico do ollo seco e desenvolvendo técnicas automáticas de procesado de imaxe e vídeo, para valorar de maneira obxectiva o enroxecimento ocular, as glándulas de Meibomio das pálpebras, e establecer a relación entre todos os tests clínicos do ollo seco. Todo isto para o seu uso e aplicación na exploración de persoas con diferentes graos de ollo seco evaporativo e pacientes con enfermidades dermatolóxicas (dermatite seborreica, acne rosácea, rosácea, etc.).

Para acadar os obxectivos do estudo solicitamos a súa colaboración.

Por que me ofrecen participar a min?

A selección das persoas invitadas a participar depende duns criterios que están descritos no protocolo da investigación. Estes criterios serven para seleccionar á poboación na que se responderá o interrogante da investigación. Vd. é convidado a participar porque cumpre os criterios de inclusión correspondentes a algún dos grupos de estudo.

En que consiste a miña participación?

Faráselle un exame completo da súa película lacrimal, incluíndo as probas estándar que se realizan na rutina clínica habitual, ás que se engadirá a gravación da súa película lacrimal, e toma de imaxe da conxuntiva do ollo e da cara interna das pálpebras. Tanto a exploración como gravación e toma de imaxe son procesos non invasivos que non supoñen risco para a saúde ocular e que se realizan en diferentes exploracións clínicas en pacientes e estudios clínicos.

A súa participación terá unha duración total estimada dunha hora nunha única visita.

O promotor ou o investigador poden decidir finalizar o estudo antes do previsto ou interromper a súa participación por aparición de nova información relevante, por motivos de seguridade, ou por incumprimento dos procedementos do estudo.

Que riscos ou inconvenientes ten?

Como xa se comentou no apartado anterior, os procesos utilizados no estudo son non invasivos, e non supoñen risco algún para a saúde ocular.

Se durante o transcurso do estudo se coñecera información relevante que afecte á relación entre o risco e o beneficio da participación, se lle transmitirá para que poida decidir abandonar ou continuar.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Obterei algún beneficio por participar?

Non se espera que Vd. obteña beneficio directo por participar no estudo. A investigación pretende descubrir aspectos descoñecidos ou pouco claros sobre a condición de ollo seco. No futuro, é posíbel que estes descubrimentos sexan de utilidade para coñecer mellor as anomalías da película lacrimal e quizá poidan beneficiar a persoas como Vd., pero non se prevén aplicacións inmediatas deles.

Recibirei a información que se obteña do estudo?

Se Vd. o desexa, facilitaráselle un resumo dos resultados do estudo.

Tamén poderá recibir os resultados das probas que se lle practiquen se así o solicita. Estes resultados poden non ter aplicación clínica nin unha interpretación clara, polo que, se quere dispor deles, deberían ser comentados co investigador do estudo.

Publicaranse os resultados deste estudo?

Os resultados deste estudo serán publicados en publicacións científicas para a súa difusión, pero non se transmitirá ningún dato que poida levar á identificación dos participantes.

Como se protexerá a confidencialidade dos meus datos?

O investigador principal comprométese a garantir a confidencialidade dos seus datos, así como a disociación dos datos clínicos persoais en cumprimento da lexislación vixente (Lei 41/2002), de xeito que na folla de recollida de datos só serán incluídos os necesarios para o estudo.

O tratamento, comunicación e cesión dos seus datos e historia clínica, que inclúe imaxes, farase coa garantía e compromiso de cumprir coa normativa vixente en materia de protección de datos conforme ao disposto pola Lei Orgánica 3/2018, do 5 de decembro, de Protección de Datos Persoais e garantía dos dereitos dixitais, e de conformidade co Regulamento UE 2016/679, os datos recollidos serán tratados pola Universidade de Santiago de Compostela (USC) no tratamento http://www.usc.es/export9/sites/webinstitucional/gl/normativa/descargas/documentos/Resolucixn_do_30_de_maio_de_2013_pola_que_se_crean_e_regulan_os_ficheiros_de_datos_de_carxcter_persoal_denominados_Sede_electrxnica_e_Actividades_de_investigacixn_da_USC_se_modifica_o_ficheiro_Xestixn_de_datos_de_usua.pdf ", coa finalidade de "Xestión de datos da historia clínica nos exames optométricos dos usuarios do Servizo de Optometría para a xestión da actividade optométrica, docente, de investigación así como o estudio, e produción estatística e de xestión." O responsable deste tratamento é o Vicerreitor de Investigación e Innovación, Edificio CACTUS 1ª Planta, 15782- Santiago de Compostela (España). En todo momento, Vd. poderá acceder aos seus datos, corrixilos ou cancelalos.

Só o equipo investigador, os monitores do estudo en representación do promotor, e as autoridades sanitarias, que teñen deber de gardar a confidencialidade, terán acceso a todos os

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

datos recollidos polo estudo. Poderase transmitir a terceiros información que non poida ser identificada. No caso de que algunha información sexa transmitida a outros países, realizarase cun nivel de protección dos datos equivalente, como mínimo, ao esixido pola normativa do noso país.

Existen intereses económicos neste estudo?

Esta investigación é promovida por a Doutora Eva Yebra-Pimentel Vilar e non se atopa financiada por ningún medio externo.

O investigador non recibirá retribución específica pola dedicación ao estudo.

Vd. non será retribuído por participar.

Quen me pode dar máis información?

Pode contactar con a Dra Eva Yebra-Pimentel Vilar, Directora do Servizo de Optometría, no teléfono 881813522 para máis información.

Moitas grazas pola súa colaboración.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO PARA A PARTICIPACIÓN NUN ESTUDO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO: **Avances na Avaliación do Síndrome de Ollo Seco**

Eu, _____

☐ Lin a folla de información ao participante do estudo arriba mencionado que se me entregou, puiden conversar con _____ [nome do investigador] e facer todas as preguntas sobre o estudo necesarias para comprender as súas condicións e considero que recibín suficiente información sobre o estudo.

☐ Comprendo que a miña participación é voluntaria, e que podo retirarme do estudo cando queira, sen ter que dar explicacións e sen que isto repercuta nos meus coidados médicos.

☐ Accedo a que se utilicen os meus datos nas condicións detalladas na folla de información ao participante.

☐ Presto libremente a miña conformidade para participar no estudo.

Respecto á conservación e utilización futura dos datos e/ou mostras detallada na folla de información ao participante,

☐ NON accedo que os meus datos e/ou mostras sexan conservados unha vez terminado o presente estudo

☐ Accedo que os meus datos e/ou mostras se conserven unha vez terminado o estudo, sempre e cando sexa imposíbel, mesmo para os investigadores, identificalos por ningún medio

☐ SI accedo que os datos e/ou mostras se conserven para usos posteriores en liñas de investigación relacionadas coa presente, e nas condicións mencionadas.

En canto aos resultados das probas realizadas,

☐ DESEXO coñecer os resultados das miñas probas

☐ NON DESEXO coñecer os resultados das miñas probas

O/a participante, O/a investigador/a,

Asdo.: **Asdo.:**
Data: **Data:**

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

SERVIZO DE OPTOMETRÍA
Servizo Sanitario da Comunidade Autónoma de Galicia
Nº Rexistro: C-15-00243

PROTECCIÓN DE DATOS

Don/na_____, con DNI nº _____,

☐ Consinto o uso dos meus datos persoais no marco de actuación do Servizo de Optometría da USC.

De conformidade co Regulamento UE 2016/679, os datos recollidos serán tratados pola Universidade de Santiago de Compostela (USC) no tratamento "Xestión de datos de usuarios e historias clínicas de exames optométricos realizados no Servizo de Optometría da Escola de Óptica e Optometría", coa finalidade de "Xestión de datos da historia clínica nos exames optométricos dos usuarios do Servizo de Optometría para a xestión da actividade optométrica, docente, de investigación así como o estudio, e produción estatística e de xestión.".

O responsable deste tratamento é o Vicerreitor de Investigación e Innovación, Edificio CACTUS 1ª Planta, 15782- Santiago de Compostela (España)

O Delegado de Protección de Datos é José Julio Fernández Rodríguez, dpd@usc.es.

A base de xustificación deste tratamento é o consentimento expresado polas persoas interesadas.

As persoas interesadas poden exercer os dereitos de acceso, rectificación, supresión, limitación de tratamento oposición e portabilidade a través da Sede Electrónica da USC: https://sede.usc.es/sede/publica/catalogo/procedemento/55/ver.htm.

Tamén poden dirixirse á Agencia Española de Protección de Datos para realizar a reclamación que considere oportuna.

No caso de non facilitar o consentimento, os datos non serán tratados, pero non se poderá ofertar o servicio.

Os datos se conservarán durante o período no que se realice a finalidade para a que foron recollidos, ou o tempo necesario para cumprir coas obrigas legais. Cumprida a finalidade, se bloquearán ata que transcorran os prazos de prescrición aplicables.

A política de privacidade e protección de datos da USC pódese consultar en http://www.usc.es/es/normativa/protecciondatos/index.html."

_____, ___ de _____ de 20__

Asdo. D/Dona: _____

ANEXO VII: AUTORIZACIÓN EDITORIAL Y CONTRIBUCIÓN A LOS TRABAJOS

Título Publicación	Año Publicación	Revista	Factor de impacto (Año)	Cuartil (Posición)	Autorización Editorial
Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope.	2022	Life-Basel	3,2 (2022)	Q2 (34/92)	Open Access
Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment.	2025	Journal of Clinical Medicine	3,0 (2023)	Q1 (2/109)	Open Access
Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease.	2023	Ocular Surface	6,0 (2023)	Q1 (4/95)	Gold Open Access

Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. (2022). Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life Basel*

Aportaciones Belén Sabucedo Villamarin: Conceptualización; investigación; redacción de la versión original del manuscrito; redacción y edición de manuscrito tras revisión por pares.

Sabucedo-Villamarin B, Garcia-Queirua J, Pena-Verdeal H, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E, Giraldez MJ. (2025). Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment. *Journal of Clinical Medicine*, 14(2), 623.

Aportaciones Belén Sabucedo Villamarin: Conceptualización; investigación; gestión de datos; metodología; redacción de la versión original del manuscrito; redacción y edición de manuscrito tras revisión por pares.

Sabucedo-Villamarin B, Pena-Verdeal H, Garcia-Queiruga J, Giraldez MJ, Garcia-Resua C, Yebra-Pimentel E. (2023). Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease. *The Ocular Surface*, 298-300.

Aportaciones Belén Sabucedo Villamarin: Conceptualización; investigación; redacción de la versión original del manuscrito; redacción y edición de manuscrito tras revisión por pares.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO VIII: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 1

life

MDPI

Artide

Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope

Belen Sabucedo-Villamarin *, Hugo Pena-Verdeal, Jacobo Garcia-Queiruga, Maria Jesus Giraldez, Carlos Garcia-Resua and Eva Yebra-Pimentel

Departamento de Fisica Aplicada (Área de Optometria), Facultade de Óptica e Optometria, Campus Vida s/n, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain
* Correspondence: belen.sabucedo@rai.usc.es; Tel.: +34-881813610

Abstract: A decrease of the Tear Meniscus Height (TMH) has been proposed as a useful indicator for Aqueous Deficient Dry Eye (ADDE) categorization. The present study aimed to calculate a TMH cut-off criterion for the categorization or severity assessment of ADDE with the Tearscope. 200 participants with a previous Dry Eye Disease (DED) diagnosis according to TFOS DEWS-II criteria were recruited. TMH by slit-lamp illumination and Lipid Layer Pattern (LLP) with Tearscope were assessed to categorise the participants into the ADDE or the Evaporative Dry Eye (EDE) group. The ADDE group was also subdivided into Mild-moderate ADDE and Moderate-severe ADDE based on TMH with slit-lamp. Additionally, the TMH was measured by Tearscope (TMH-Tc). Receiver Operating Characteristics showed that the TMH-Tc have a diagnostic capability to differentiate between ADDE and EDE participants, and between Mild-moderate or Moderate-severe ADDE, with a cut-off value of 0.159 mm (AUC = 0.843 ± 0.035, $p < 0.001$; sensitivity: 86.4%; specificity: 75.4%) and 0.105 mm (AUC = 0.953 ± 0.025, $p < 0.001$; sensitivity: 98.1%; specificity: 80.0%), respectively. The present study proposed a cut-off criterion to differentiate between ADDE and EDE participants, or between ADDE severities through TMH assessed by Tearscope.

Keywords: ADDE; TMH; Tearscope; cut-off value; Tear Film and Ocular Surface Society in the second Dry Eye Workshop (TFOS DEWS-II)

check for updates

Citation: Sabucedo-Villamarin, B.; Pena-Verdeal, H.; Garcia-Queiruga, J.; Giraldez, M.J.; Garcia-Resua, C.; Yebra-Pimentel, E. Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life* **2022**, *12*, 2007. https://doi.org/10.3390/life12122007

Academic Editors: Begoña Fonseca and Alba Martin-Gil

Received: 15 November 2022
Accepted: 30 November 2022
Published: 2 December 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The tear film plays an essential role in ocular surface maintenance, providing the first line of defence and a smooth optical surface [1–4]. Dry eye is considered by many practitioners to be the most common symptom of eye discomfort in daily clinical practice. The Tear Film and Ocular Surface Society in the second Dry Eye Workshop (TFOS DEWS-II) defined Dry Eye Disease (DED) as a chronic multifactorial condition characterized by a loss of homeostasis and instability of the tear film, changing its composition, and causing ocular surface inflammation [1,3]. There are two main types of DED: Aqueous Deficient Dry Eye (ADDE) and Evaporative Dry Eye (EDE). The ADDE subtype occurs due to a reduced volume of aqueous production of the lacrimal gland, whereas EDE is usually caused by Meibomian Gland Dysfunction (MGD) or eyelid margin problems [1,5]. Therefore, an additional method for differentiation between ADDE and EDE is the assessment of the tear volume. The total tear film volume is usually evaluated indirectly through the measurement of the lower Tear Meniscus Height (TMH) since it has been estimated that the tear meniscus holds more than the 75% of the total tear film volume [1,3]. Therefore, the TMH measurement provides and specific tool for ADDE detection and thus, the assessment of ADDE severity [3].

The assessment of the TMH is universally performed by eye care practitioners with the slit-lamp biomicroscope during routine ocular examination [3,6,7]. TMH offers a valuable clinical sign for tear film volume analysis; however, there is not an accepted gold standard

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

for the measurement method, which could lead to different values. This measurement could be performed with a millimetre reticule (directly during the eye examination) or by capturing an image of the meniscus and then processing it with image analysis software, such as ImageJ [8,9]. Other techniques, such as Optical Coherence Tomography (OCT), interferometry devices attached to the slit-lamp or multidiagnostic platforms, are used to measure TMH [10–13]. The interferometry technique is also performed with the slit-lamp biomicroscope, but using the interferometer illumination, measuring the TMH by capturing an image of the meniscus and analysing it with computer software [14,15].

The mean values of TMH in eyes without DED have been reported between 0.25 ± 0.08 and 0.29 ± 0.13 mm using the slit-lamp biomicroscope technique, between 0.19 ± 0.02 and 0.34 ± 0.15 mm with OCT and between 0.27 ± 0.12 and 0.29 ± 0.04 mm with other multidiagnostic platforms [8,12,16–19]. The TFOS DEWS-II Diagnostic Subcommittee proposed the TMH as a differential factor for the subclassification of DED, establishing a cut-off value of 0.20 mm or lower as an indicator of ADDE measured only by the slit-lamp biomicroscope technique [3,8]. Currently, studies proposed the use of innovative devices or technologies with proven repeatability and reliability, which are portable and inexpensive, to enhance the diagnosis. One such example is the Tearscope, which is one of the most widely used interferometric devices [14,15,20]. Therefore, the use of these devices creates the need to establish reliable diagnostic criteria available to practitioners. The present study aimed to establish TMH cut-off criteria for diagnosis and severity assessment of ADDE using the Tearscope.

2. Materials and Methods

2.1. Sample

A total of 200 participants (mean age of 42.84 ± 16.86 years) who attended the Optometry Clinic with an Ocular Surface Disease Index (OSDI) questionnaire score greater than 13 points were recruited for the study [21]. Only data from one eye (right eye) were included in the statistical analysis [22]. No participant was using any kind of medication or artificial tears at the time of the study. Participants were excluded if they had a prior history of ocular surgery (including refractive surgery or eyelid tattooing), ocular infections, MGD, blepharitis, glaucoma, systemic diseases, autoimmune disease, or diabetes mellitus, were pregnant or breast-feeding or wore contact lenses. All the participants gave their written informed consent to be included in the study and all procedures followed were in accordance with the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Bioethics Committee of the university (USC-08/2021).

2.2. Study Design and Diagnostic Criteria

A battery of clinical procedures was conducted in all participants according to the TFOS DEWS-II Diagnostic Methodology report [3]. All these measurements were performed and recorded by the same examiner in a single session to avoid interobserver or intersession variability [23]. The protocol was made under controlled environmental conditions of light, temperature (20–23 °C) and humidity (50–60%). Tests were always performed in the same order, from the least to the most invasive [3]: tear film osmolarity, TMH with the slit-lamp (TMH-SL) and Tearscope (TMH-Tc), Lipid Layer Pattern (LLP), Fluorescein Break-Up Time (FBUT) and corneal staining. First, the diagnostic tests cut-off values for the DED diagnosis employed were a tear osmolarity ≥ 308 mOsm/L, an FBUT < 10 s and/or corneal staining (Oxford Scheme) ≥ 2 [3]. Second, each participant was classified according to type, as follows [1,3]:

- ADDE type: participants presented a TMH-SL ≤ 0.20 mm and an LLP > Closed Meshwork. The participants who formed the ADDE group were also subclassified into Mild-moderate ADDE if the TMH-SL was ≥0.10 mm or Moderate-severe ADDE if the TMH-SL was ≤0.10 mm.
- EDE type: participants presented a THM-SL ≥ 0.20 mm and an LLP ≤ Closed Meshwork.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

According to those criteria, the sample was divided into two main groups for the analysis: ADDE and EDE group; participants classified as mixed type (TMH-SL ≤ 0.20 mm and LLP ≤ Closed Meshwork) were not included in the analysis to avoid interferences on the results [3].

2.3. Evaluation Procedures

2.3.1. Symptomatology Assessment

DED symptomatology has been quantified by the OSDI questionary, which was self-administered by scanning a QR code provided before the examination [3,21,24]. This disease-specific questionnaire includes 12 questions asked concerning a 1-week recall period. The OSDI scores obtained were evaluated by the examiner according to the standardized guidelines on a scale of 0 to 100 points, where higher scores represent greater disability [3,21,24].

2.3.2. Tear Film Osmolarity

The TearLab osmometer (TearLab Corp, San Diego, CA, USA) was used to measure the tear film osmolarity [25]. The participants were requested to sit with their heads tilted and their eyes looking at the ceiling. Then, the instrument probe was placed on the lower tear meniscus of the right eye until a beep was emitted, signalling that the sample was collected [26,27]. The TearLab converts the electrical impedance of the sample into osmolarity (mOsm/L), which was displayed on the device screen. The device measurement range extends from 275 to 400 mOsm/L.

2.3.3. Tear Meniscus Height

The TMH was measured by two methods: first, with the slit-lamp technique, and second, with an interferometer of cool white fluorescent light (Tearscope, Keeler, Windsor, UK). In both cases, the participants were properly positioned at the slit-lamp Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) chin rest and instructed to look at a target to maintain primary eye gaze while the lower tear meniscus was observed with a natural blink. In both cases, the meniscus was recorded in video by the Topcon DC-4 (Topcon Corporation, Japan) digital camera attached to the slit-lamp and connected to a computer via the Topcon IMAGEnet i-base software (Topcon Corporation, Japan). The central lower meniscus was video captured at 6 o'clock position with the biomicroscope set at 0° and a 40× magnification in both techniques (Figure 1). From the least to the most invasive [3], the TMH was first assessed with the slit-lamp with 3 mm wide and 5 mm height and moderate illumination to avoid reflex tearing (Figure 1a) [8,15]. The TMH was then evaluated with the slit-lamp light off and interferometer Tearscope attached to the Topcon SL-D4 slit-lamp to keep the distance between the chinrest and the device constant during the measurement; in all TMH-Tc recordings, the brighter illumination of the Tearscope was used for better visualization (Figure 1b) [8,10,28].

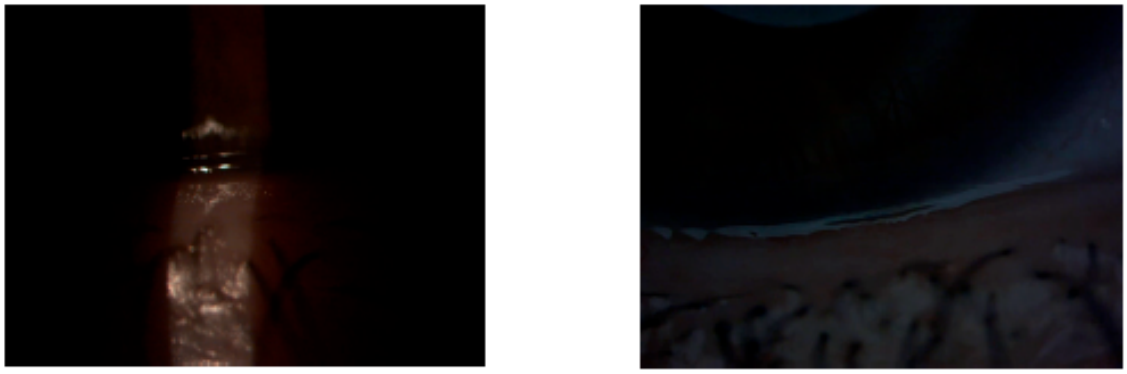
The TMH images were extracted from the recorded videos and measured by a second masked observer with the open-source software ImageJ v1.53t (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA; http://imagej.nih.gov/ij/ (accessed on 18 January 2022)). Before the present study and similar to a previous study [15], a millimetre in a rule positioned at the same optical plane of the patients' eye was captured and measured with the ImageJ software, giving a length of 300 pixels; this pre-study data was used to convert the pixels provided by the software to estimate the TMHs in millimetres (300 pixels = 1 mm) for further statistical analysis.

2.3.4. Lipid Layer Pattern Evaluation

The LLP was evaluated with the Tearscope interferometer, which provides a visualisation of the interference pattern created by the lipid layer [23,29]. To acquire a centred visualisation while the LLP spreads completely, the Tearscope was attached to the slit-lamp and the participants were instructed to blink three times naturally without squeezing and

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

to focus their sight straight to the centre of the device. This process was repeated three times on each participant. Once videos were recorded, images were assessed by a second masked observer. Each image was captured immediately after blinking when the lipid layer was completely expanded for one second [23]. The images were then classified following Guillon's Scheme, a five-grade scale described as an Open Meshwork, Closed Meshwork, Wave, Amorphous and Colour LLP, that are related to thin (open and closed meshwork pattern), average (wave pattern) or thick (amorphous, and colour patterns) tear film lipid layers [23,29].



(**a**) (**b**)

Figure 1. Lower tear meniscus. (**a**) Tear meniscus performed with the slit-lamp illumination; (**b**) Tear meniscus performed with the Tearscope illumination.

2.3.5. Fluorescein Break-Up Time and Corneal Staining

The FBUT and the corneal staining measurements were both evaluated with the Keratograph 5M (Oculus Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany) with the participants properly positioned in the device [13,30]. Participants were instructed to look up to apply a hydrated fluorescein strip in the inferior fornix with saline solution [31].

The subjects were then requested to blink several times to ensure the adequate mixing of the dye. The FBUT was evaluated and recorded using the fluorescein function provided by the device. The FBUT was defined as the time interval between the last blink and the appearance of the first black spot on the corneal surface. This procedure was repeated three times for each participant; the final values were computed based only on the two most similar measurements [32,33]. Once videos were recorded and extracted, the FBUT was calculated by a second masked observer using the VIrtualDub64 (Open software), which provides the video recorded in frames (8 frames = 1 s) to improve the temporal resolution.

Immediately after the FBUT videos were recorded, the assessment of the corneal staining was performed through the same device, with the participant seated with their head in the same position and using fluorescein dye. The participants were first instructed to look at the centre of the device in order to evaluate the possible damage to the central cornea and then look right, left, up and down to observe the entire cornea [31,34]. The video was recorded, and the corneal staining was evaluated by a second masked observer using the Oxford Scheme once the images were extracted from the video [34]. The six Oxford scheme grades (0–5) denote the severity of dry eye: mild (stage 0 or 1), moderate (stage 2 or 3) or severe (stage 4 or 5) [34].

2.3.6. Statistical Analysis

SPSS statistical software v.25.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for data analysis. Significance was set at a $p \leq 0.05$ for all statistical tests. Before analysis, the normal distribution of the data was checked using the Shapiro–Wilk test [35]; Osmolarity, FBUT, TMH-SL and TMH-Tc showed a normal distribution (Shapiro–Wilk, all $p > 0.05$) whereas OSDI, Corneal Staining and LLP were not normally distributed (Shapiro–Wilk,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

all $p < 0.05$). The descriptive summary of data was conducted with mean with Standard Deviation (SD) for parametric parameters, median and Interquartile Range (IQR) for non-parametric parameters, and minimum and maximum values are displayed. Differences in the values obtained in each parameter between groups or subgroups were analysed with the unpaired *t*-test on parametric variables while the Mann–Whitney U test was used for non-parametric variables.

The optimal cut-off value of the TMH-Tc to distinguish between ADDE and EDE participants as well as between Mild-moderate or Moderate-severe ADDE participants was estimated with the Receiver Operating Characteristics (ROCs) procedure [36–38]. Each theoretical cut-off value (from the lowest to the highest value observed in the study population) was used to estimate the sensitivity and specificity of the test. Results were then graphed with the sensitivity as a function of (1-specificity). This method of representing the relationship between the putative cut-off values and the effectiveness of the test provides a convenient way for selecting the threshold that finally provides the best combination between sensitivity and specificity (the optimal cut-off value is usually chosen as the hinge point of the curve). The discrimination power of the predictive classification model proposed was provided as the value of the Area Under the Curve (AUC) ± SD in a range from 0 (no predictive) to 1 (almost perfect). In addition, both upper and lower 95% Confidence Intervals (CI) of the AUC were also provided (Mean ± 1.96 × SD). The maximum value of Youden's J statistic was computed (J = sensitivity + specificity − 1) to choose the best cut-off numerical criterion based on each ROC curve (hinge point of the curve), since this statistic captures the highest possible performance of a diagnostic test in a single parameter where the number of false positives and false negatives is equal.

In a second reanalysis, a cross-validation analysis was performed to assess the validity of the cut-off obtained. On each analysis, an 80% random sampling was performed previous to reanalysis with the SPSS commands. The TMH-Tc variable was converted into a new dichotomous parameter based on the cut-off calculated (0 equal to negative diagnostic and 1 to positive diagnostic), and the association of this variable and the initial diagnostic based on the TFOS DEWS-II Diagnostic Methodology report was analysed with the Cramer's V from 0 (no predictive) to 1 (perfect predictive).

3. Results

Descriptive statistics for all the measurements of the sample are provided in Table 1.

Table 1. Descriptive statistics of all samples.

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/L) *	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	FBUT (s) *	TMH-SL (mm) *	LLP (Guillon Scheme) **	TMH-Tc (mm) *
Total Sample (n = 200)	Mean/ Median	42.84	25.00	318.40	1.00	7.76	0.186	Close Meshwork	0.173
	SD/IQR	16.86	18.75–35.42	18.51	0.00–1.00	6.17	0.089	Open Meshwork—Wave	0.077
	Minimum	18.00	12.50	275.00	0.00	1.45	0.060	Open Meshwork	0.040
	Maximum	71.00	77.08	400.00	4.00	41.60	0.740	Colour	0.640

SD = Standard Deviation. IQR = Interquartile Range. OSDI = Ocular Surface Disease Index. FBUT = Fluorescein Break-Up Time. TMH-SL = Tear Meniscus Height with Slit-Lamp. LLP = Lipid Layer Pattern. TMH-Tc = Tear Meniscus Height with Tearscope. * Mean and SD displayed on parametric parameters. ** Median and IQR displayed on non-parametric parameters.

3.1. Assessment of TMH-Tc Cut-Off Values to Differentiate between ADDE and EDE Participants

Descriptive statistics for all the measurements on each subgroup are provided in Table 2. There were no statistical differences found in the Age, OSDI, Osmolarity, Corneal

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

staining or FBUT distribution between groups (all $p \geq 0.090$), whereas a statistical difference was found in the TMH-SL, LLP and TMH-Tc values (all $p \leq 0.001$).

Table 2. Descriptive statistics of the ADDE and EDE groups.

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/L) *	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	FBUT (s) *	TMH-SL (mm) *	LLP (Guillon Scheme) **	TMH-Tc (mm) *
ADDE (n = 69)	Mean/ Median	46.14	25.00	319.83	1.00	8.55	0.140	Wave	0.143
	SD/IRQ	14.95	18.75–39.58	16.51	0.00–1.50	6.17	0.037	Wave-amorphous	0.054
	Minimum	18.00	12.50	291.00	0.00	1.45	0.060	Wave	0.04
	Maximum	71.00	60.42	400.00	4.00	41.60	0.190	Colour	0.33
EDE (n = 66)	Mean/ Media	42.86	22.57	312.50	1.00	7.39	0.270	Closed Meshwork	0.228
	SD/IQR	18.66	16.67–34.09	19.42	0.00–1.00	4.20	0.105	Open Meshwork—Closed Meshwork	0.092
	Minimum	18.00	12.50	275.00	0.00	1.83	0.200	Open Meshwork	0.080
	Maximum	71.00	77.08	400.00	4.00	22.75	0.740	Closed Meshwork	0.640
	p	0.260 ‡	0.142 †	0.090 ‡	0.300 †	0.300 ‡	<0.001 ‡	<0.001 †	<0.001 ‡

SD = Standard Deviation. IQR = Interquartile Range. OSDI = Ocular Surface Disease Index. FBUT = Fluorescein Break-Up Time. TMH-SL = Tear Meniscus Height with Slit-Lamp. LLP = Lipid Layer Pattern. TMH-Tc = Tear Meniscus Height with Tearscope. * Mean and SD displayed on parametric parameters. ** Median and IQR displayed on non-parametric parameters. ‡ Unpaired *t*-test. † Mann–Whitney U test.

ROCs procedures showed that TMH-Tc has a diagnostic capability to differentiate between participants' types (AUC = 0.843 ± 0.0354, $p < 0.001$, 95% CI = 0.774–0.912). By calculating the Youden's index (Youden's J statistic = 0.617), there was found a cut-off value for the THM-Tc of 0.159 mm (sensitivity: 86.4%; specificity: 75.4%) to distinguish ADDE from EDE participants (Figure 2). The cross-validation analysis on a random sampling of 80% showed a strong association of the calculated TMH-Tc with the previous proposed diagnostic criteria of the TFOS DEWS-II to differentiate between ADDE and EDE participants (Cramer's V = 0.657, $p < 0.001$).

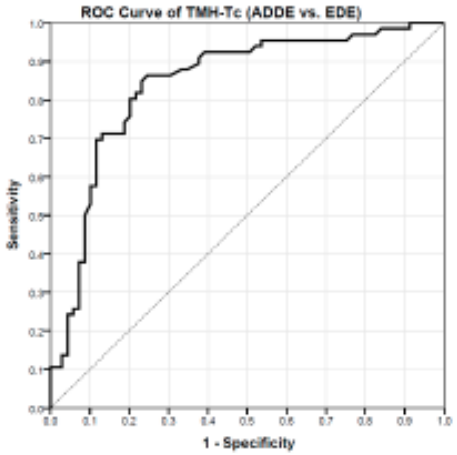


Figure 2. ROC curve showing the relationship between sensitivity and specificity of the TMH-Tc (ADDE vs. EDE) according to theoretical thresholds; for each of the values observed in the study

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

population (from the lowest to the highest in either ADDE or the EDE group), the sensitivity and sensibility indexes have been calculated and reported in the graph. According to the ROC procedure (optimal cut-off value was chosen as the hinge point of the curve), the value of 0.159 mm (sensitivity: 86.4%; specificity: 75.4%) for the TMH-Tc test has been selected as the best threshold to distinguish between groups. n = 135; TMH-Tc = Tear Meniscus Height with Tearscope. ROC = Receiver Operating Characteristic; ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye; EDE = Evaporative Dry Eye.

3.2. *Assessment of TMH-Tc Cut-Off Values to Differentiate between Mild-Moderate and Moderate-Severe ADDE Participants*

Descriptive statistics for the ADDE Mild-moderate subgroup are provided in Table 3. There was found no statistical difference in the Age, OSDI, Osmolarity, Corneal staining or LLLP distribution between ADDE subgroups (all $p \geq 0.052$), whereas a statistical difference was found in the FBUT, TMH-SL and TMH-Tc values (all $p \leq 0.047$).

Table 3. Descriptive statistics of the ADDE Mild-moderate and ADDE Moderate-severe subgroups.

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/L) *	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	FBUT (s) *	TMH-SL (mm) *	LLP (Guillon Scheme) **	TMH-Tc (mm) *
ADDE Mild-moderate	Mean/ Median	45.24	29.17	317.65	1.00	9.45	0.157	Wave	0.159
	SD/IQR	15.16	18.75–37.50	13.35	0.00–1.00	8.68	0.022	Wave—amorphous	0.050
	Minimum	18.00	12.50	291.00	0.00	1.75	0.011	Wave	0.070
(n = 64)	Maximum	68.00	60.42	368.00	3.00	14.60	0.200	Colour	0.330
ADDE Moderate-severe (n = 15)	Mean/ Median	48.40	25.00	327.13	1.00	4.91	0.081	Wave	0.228
	SD/IQR	14.45	20.00–41.67	23.81	0.00–2.00	3.01	0.023	Wave-Colour	0.092
	Minimum	20.00	12.50	303.00	0.00	1.45	0.060	Wave	0.080
	Maximum	71.00	60.42	400.00	4.00	10.45	0.100	Colour	0.640
	p	0.513 ‡	0.884 †	0.052 ‡	0.056 †	0.047 ‡	<0.001 ‡	0.222 †	<0.001 ‡

SD = Standard Deviation. IQR = Interquartile Range. OSDI = Ocular Surface Disease Index. FBUT = Fluorescein Break-Up Time. TMH-SL = Tear Meniscus Height with Slit-Lamp. LLP = Lipid Layer Pattern. TMH-Tc = Tear Meniscus Height with Tearscope. * Mean and SD displayed on parametric parameters. ** Median and IQR displayed on non-parametric parameters. ‡ Unpaired *t*-test. † Mann-Whitney U test.

ROCs procedures showed that TMH-Tc has a diagnostic capability to differentiate between patient severities (AUC = 0.953 ± 0.0230, $p < 0.001$, 95% CI = 0.908–0.999). By calculating the Youden's index (Youden's J statistic = 0.782), there was found a cut-off value for the THM-Tc of 0.105 mm (sensitivity: 98.1%; specificity: 80.0%) to distinguish Mild-moderate from Moderate-severe ADDE participants (Figure 3). The cross-validation analysis on a random sampling of 80% showed an almost perfect association of the calculated TMH-Tc against the previous proposed diagnostic criteria of the TFOS DEWS-II to differentiate Mild-moderate from Moderate-severe ADDE participants (Cramer's V = 0.854, $p < 0.001$).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

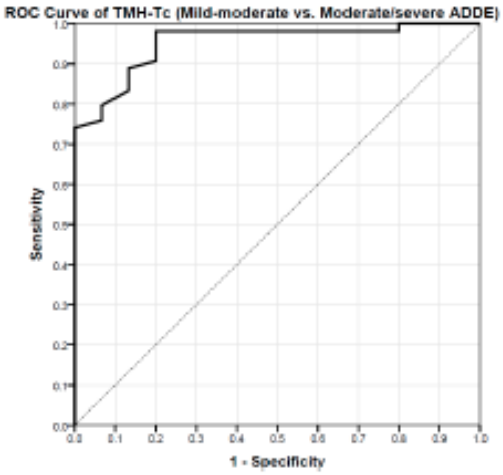


Figure 3. ROC curve showing the relationship between sensitivity and specificity of the TMH-Tc (Mild-moderate ADDE vs. Moderate-severe ADDE) according to theoretical thresholds; for each of the values observed in the study population (from the lowest to the highest in either Mild-moderate or the Moderate-severe group), the sensitivity and sensibility indexes have been calculated and reported in the graph. According to the ROC procedure (optimal cut-off value was chosen as the hinge point of the curve), the value of 0.105 mm (sensitivity: 98.1%; specificity: 80.0%) for the TMH-Tc test has been selected as the best threshold to distinguish between groups. n = 69. TMH-Tc = Tear Meniscus Height with Tearscope. ROC = Receiver Operating Characteristic; ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye.

4. Discussion

In the actual clinical visual health sciences, there is a growing interest in the use of novel devices that are more portable and easier to use for daily routine explorations and management of DED [14,20]. The status of the tear film has great relevance for DED assessment, being that the total tear film volume is a relevant parameter for its characterisation [3,6]. TMH has been proposed as the most useful procedure to provide an indirect measurement of the tear film volume, as it is able to differentiate between the two main subgroups of DED: the ADDE and the EDE [6,39]. Over the past few decades, different non-invasive methods have been proposed to obtain the TMH measurement instead of traditional measurement with slit-lamp [12]. However, there is still the inconvenience of the high cost and size of those instruments. To shortcut those limitations, devices such as the Tearscope or Easytearview+ (Easytear S.R.L, Italy) interferometers have been introduced and chosen by practitioners [10,11,13,40]. The usefulness and capability of the Tearscope device to assess the TMH is similar to the traditional slit-lamp biomicroscope technique [20] without significant TMH measurements [14,15], and is a simple, reliable and repeatable tool that can be used for the assessment of DED patients [14,15,20].

Several authors obtained mean values of TMH in different dry eye cohort participants that go from 0.19 ± 0.05 to 0.20 ± 0.04 mm in ADDE, from 0.271 ± 0.117 to 0.29 ± 0.09 mm in MGD, from 0.203 ± 0.050 to 0.22 ± 0.09 mm in ADDE with MGD participants and 0.169 ± 0.029 mm for undefined dry eye participants [41–43]. In the present study, mean values of TMH, similar to previous studies, were obtained for ADDE and EDE (0.143 ± 0.054 and 0.228 ± 0.092 mm respectively), showing that ADDE participants have lower TMH values than EDE participants (Unpaired *t*-test, $p < 0.001$).

Although there are studies that compare the results obtained with the different illuminations of the devices, those authors have not sought a cutting criterion to differentiate between ADDE and EDE diagnosis, or ADDE severities assessment [11,14,15,20]. Niedernolte et al. [11] evaluated the measurement of the TMH with slit-lamp and Tearscope illumination using pre-setting cut-off values of 0.20, 0.22, and 0.24 mm, showing that the measurement with reticule assistance under 8× and 32× magnification was able to

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

discriminate between normal and low TMH participants using these three criteria. In addition, they showed that measuring the TMH by image analysis software was unable to differentiate between normal and low TMH participants when the cut-off was set at 0.20 mm, which did not happen with the cut-off values of 0.22 or 0.24 mm [11]. According to the ROCs procedure, the optimal cut-off value is usually chosen as the hinge point of the curve between sensitivity and specificity for each of the observed values in the study population; the present study found a cut-off criterion when the measurement of the TMH was performed under Tearscope illumination and by image analysis for ADDE diagnosis of 0.159 mm, with a sensitivity and specificity of 86.4% and 75.4%, respectively. Researchers suchg as Singh et al. [43] found a cut-off value of 0.204 mm to distinguish between healthy and ADDE participants, with a sensitivity and specificity of 98.3% and 96.67%, respectively. Additionally, Qiu et al. [44] found a cut-off value of 0.248 mm to differentiate healthy from ADDE participants, with a sensitivity of 61% and a specificity of 77%. These cut-off values were slightly higher than those obtained in the present study; however, it should be noted that these reports compared healthy and DED participants (not ADDE vs. EDE participants); moreover, the device used for the TMH measurement was the OCT [11,43,44]. Furthermore, the sensitivity and specificity obtained in the present study measured the TMH using Tearscope illumination and image analysis, which is a reliable option for practitioners. OCT instruments are expensive and are not portable, and the image interpretation is more complex than the Tearscope. Measuring the TMH with slit-lamp illumination, Garcia-Resua et al. [8] showed that the mean value of the TMH in healthy participants was 0.25 ± 0.08 mm. Similar results were obtained by Imamura et al. [45], where the mean TMH values measured with slit-lamp illumination and reticule were 0.21 ± 0.50 mm. The differences between the illumination and visualization systems used in those previous studies affect the mean values of each technique, in concordance with the present study, which showed lower mean values. Furthermore, it should be considered that in the present study the resolution technique is higher, due to the use of image analysis quality that a slit-lamp with reticule does not provide [15].

Besides the detection of ADDE, the TMH could provide different degrees of severity; the TFOS DEWS-II proposed that a TMH lower than 0.10 mm may distinguish between Moderate-severe and Mild-moderate ADDE [3]. The present study proposed a possible criterion for ADDE moderate-severe in agreement with the described before when the TMH measured with Tearscope was lower than 0.105 mm (98.1% sensitivity and 80% of specificity) that could allow the clinical differentiation in ADDE subgroups. To the best of the researcher's knowledge, no other report has proposed a cut-off criterion to differentiate between ADDE subgroups.

The main strength of the present study was the high total sample size recruited (200 participants). In addition, it is important to note that strict diagnosis and classification criteria according to the TFOS DEWS-II Diagnostic Methodology report were used [3]. In addition, the characterisation and exclusion of the DED mixed group type from the analyses to avoid interference gave more accuracy to the results, because those participants have both, the lipid phase and the tear film volume altered. On the other hand, the main limitation of the present study was the small size of the ADDE participants in the Moderate-severe subgroup, where the number of volunteers was considerably lower than in the other group; additionally, the classification of the participants in the DED subgroups was performed by using slit-lamp illumination, which implies a limitation of the study too. Another limitation is the requirement of digital imaging and the subsequent measurement required; the clinician does not get an immediate measurement that could be used in the routine clinic. In addition, the cut-off values obtained are specific for the Tearscope; while similar devices, such as the EASYTEARview, would simply act as a cold light source and would be expected to show similar cut-off criterion (the difference may only lie in the observation system) since both devices have a similar but not completely equal design (i.e., the Tearscope has a cone larger than the EASYTEARview; therefore, the distance that the illumination is generated could affect the visualization), new validation studies

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

for those devices may be required. Those issues should be addressed in future clinical research investigations.

5. Conclusions

In conclusion, cut-off values to differentiate between the type of dry eye (ADDE or EDE) and between ADDE severity through the assessment of the TMH by the Tearscope have been proposed. Those proposed values could be useful to eye practitioners to implement the Tearscope, an easy-to-use portable device, in their dry eye diagnosis routinary clinical assessment. The next step must be to validate the diagnostic reliability of the cut-off values obtained in the present study in a different DED participant sample.

Author Contributions: Conceptualization, B.S.-V., H.P.-V., J.G.-Q., M.J.G., C.G.-R. and E.Y.-P.; Investigation, B.S.-V., H.P.-V. and J.G.-Q.; Methodology, B.S.-V., H.P.-V. and J.G.-Q.; Project administration, M.J.G., C.G.-R. and E.Y.-P.; Supervision, H.P.-V., M.J.G., C.G.-R. and E.Y.-P.; Visualization, M.J.G., C.G.-R. and E.Y.-P.; Writing—original draft, B.S.-V., H.P.-V. and J.G.-Q.; Writing—review & editing, B.S.-V., H.P.-V., J.G.-Q., M.J.G., C.G.-R. and E.Y.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Ethics Committee of Universidade de Santiago de Compostela (code USC-08/2021) on 22 March 2021.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Craig, J.P.; Nichols, K.K.; Akpek, E.K.; Caffery, B.; Dua, H.S.; Joo, C.K.; Liu, Z.; Nelson, J.D.; Nichols, J.J.; Tsubota, K.; et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 276–283. [CrossRef]
2. Tsubota, K.; Yokoi, N.; Shimazaki, J.; Watanabe, H.; Dogru, M.; Yamada, M.; Kinoshita, S.; Kim, H.M.; Tchah, H.W.; Hyon, J.Y.; et al. New Perspectives on Dry Eye Definition and Diagnosis: A Consensus Report by the Asia Dry Eye Society. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 65–76. [CrossRef]
3. Wolffsohn, J.S.; Arita, R.; Chalmers, R.; Djalilian, A.; Dogru, M.; Dumbleton, K.; Gupta, P.K.; Karpecki, P.; Lazreg, S.; Pult, H.; et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 539–574. [CrossRef]
4. Yokoi, N.; Georgiev, G.A. Tear-film-oriented diagnosis for dry eye. *Jpn. J. Ophthalmol.* **2019**, *63*, 127–136. [CrossRef]
5. Bron, A.J.; de Paiva, C.S.; Chauhan, S.K.; Bonini, S.; Gabison, E.E.; Jain, S.; Knop, E.; Markoulli, M.; Ogawa, Y.; Perez, V.; et al. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 438–510. [CrossRef]
6. Mainstone, J.C.; Bruce, A.S.; Golding, T.R. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr. Eye Res.* **1996**, *15*, 653–661. [CrossRef]
7. Shen, M.; Li, J.; Wang, J.; Ma, H.; Cai, C.; Tao, A.; Yuan, Y.; Lu, F. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2009**, *50*, 2722–2726. [CrossRef]
8. Garcia-Resua, C.; Santodomingo-Rubido, J.; Lira, M.; Giraldez, M.J.; Vilar, E.Y. Clinical assessment of the lower tear meniscus height. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2009**, *29*, 487–496. [CrossRef]
9. Santodomingo-Rubido, J.; Wolffsohn, J.; Gilmartin, B. Comparison between graticule and image capture assessment of lower tear film meniscus height. *Contact Lens Anterior Eye* **2006**, *29*, 169–173. [CrossRef]
10. Lam, A.K.; Tai, S.K.; Chan, J.K.; Ng, R.W. Lower Tear Meniscus Height Measurements Using Keratography and Swept-Source Optical Coherence Tomography and Effect of Fluorescein Instillation Methods. *Curr. Eye Res.* **2019**, *44*, 1203–1208. [CrossRef]
11. Niedernolte, B.; Trunk, L.; Wolffsohn, J.S.; Pult, H.; Bandlitz, S. Evaluation of tear meniscus height using different clinical methods. *Clin. Exp. Optom.* **2021**, *104*, 583–588. [CrossRef] [PubMed]
12. Tian, L.; Qu, J.H.; Zhang, X.Y.; Sun, X.G. Repeatability and Reproducibility of Noninvasive Keratograph 5M Measurements in Patients with Dry Eye Disease. *J. Ophthalmol.* **2016**, *2016*, 8013621. [CrossRef] [PubMed]
13. Wang, Y.; Xu, Z.; Gong, Q.; Ren, W.; Chen, L.; Lu, F.; Hu, L. The Role of Different Tear Volume Detection Methods in the Evaluation and Diagnosis of Mild Dry Eye Disease. *Transl. Vis. Sci. Technol.* **2022**, *11*, 15. [CrossRef] [PubMed]
14. 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*, 819–824. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

15. Pena-Verdeal, H.; Garcia-Resua, C.; Barreira, N.; Giraldez, M.J.; Yebra-Pimentel, E. Interobserver variability of an open-source software for tear meniscus height measurement. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2016**, *39*, 249–256. [CrossRef]
16. Nichols, K.K.; Mitchell, G.L.; Zadnik, K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea* **2004**, *23*, 272–285. [CrossRef]
17. Li, J.; Shen, M.; Wang, J.; Ma, H.; Tao, A.; Xu, S.; Lu, F. Clinical significance of tear menisci in dry eye. *Eye Contact Lens* **2012**, *38*, 183–187. [CrossRef]
18. Wang, J.; Palakuru, J.R.; Aquavella, J.V. Correlations among upper and lower tear menisci, noninvasive tear break-up time, and the Schirmer test. *Am. J. Ophthalmol.* **2008**, *145*, 795–800. [CrossRef]
19. Wei, A.; Le, Q.; Hong, J.; Wang, W.; Wang, F.; Xu, J. Assessment of Lower Tear Meniscus. *Optom. Vis. Sci. Off. Publ. Am. Acad. Optom.* **2016**, *93*, 1420–1425. [CrossRef]
20. Tong, L.; Teng, L.S. Review of Literature on Measurements of Non-invasive Break Up Times, Lipid Morphology and Tear Meniscal Height Using Commercially Available Hand-held Instruments. *Curr. Eye Res.* **2018**, *43*, 567–575. [CrossRef]
21. Miller, K.L.; Walt, J.G.; Mink, D.R.; Satram-Hoang, S.; Wilson, S.E.; Perry, H.D.; Asbell, P.A.; Pflugfelder, S.C. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch. Ophthalmol.* **2010**, *128*, 94–101. [CrossRef] [PubMed]
22. Ray, W.A.; O'Day, D.M. Statistical analysis of multi-eye data in ophthalmic research. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1985**, *26*, 1186–1188.
23. Garcia-Resua, C.; Pena-Verdeal, H.; Minones, M.; Giraldez, M.J.; Yebra-Pimentel, E. Interobserver and intraobserver repeatability of lipid layer pattern evaluation by two experienced observers. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2014**, *37*, 431–437. [CrossRef]
24. Schiffman, R.M.; Christianson, M.D.; Jacobsen, G.; Hirsch, J.D.; Reis, B.L. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch. Ophthalmol.* **2000**, *118*, 615–621. [CrossRef]
25. Lemp, M.A.; Bron, A.J.; Baudouin, C.; Benitez Del Castillo, J.M.; Geffen, D.; Tauber, J.; Foulks, G.N.; Pepose, J.S.; Sullivan, B.D. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am. J. Ophthalmol.* **2011**, *151*, 792–798 e791. [CrossRef]
26. Benelli, U.; Nardi, M.; Posarelli, C.; Albert, T.G. Tear osmolarity measurement using the TearLab Osmolarity System in the assessment of dry eye treatment effectiveness. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2010**, *33*, 61–67. [CrossRef]
27. Keech, A.; Senchyna, M.; Jones, L. Impact of time between collection and collection method on human tear fluid osmolarity. *Curr. Eye Res.* **2013**, *38*, 428–436. [CrossRef]
28. Guillon, J.P. Use of the Tearscope Plus and attachments in the routine examination of the marginal dry eye contact lens patient. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *438*, 859–867.
29. Guillon, J.P. Abnormal lipid layers. Observation, differential diagnosis, and classification. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *438*, 309–313.
30. Chen, L.L.; Chen, Z.L.; Xu, G.H.; Zhang, L.Q. Evaluation of the tear film function in diabetic patients using the Keratograph 5M. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi] Chin. J. Ophthalmol.* **2018**, *54*, 762–766. [CrossRef]
31. Johnson, M.E.; Murphy, P.J. The Effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea* **2005**, *24*, 811–817. [CrossRef] [PubMed]
32. Pena-Verdeal, H.; Garcia-Resua, C.; Ramos, L.; Yebra-Pimentel, E.; Giraldez, M.J. Diurnal variations in tear film break-up time determined in healthy subjects by software-assisted interpretation of tear film video recordings. *Clin. Exp. Optom. J. Aust. Optom. Assoc.* **2016**, *99*, 142–148. [CrossRef] [PubMed]
33. Cho, P.; Brown, B. Review of the tear break-up time and a closer look at the tear break-up time of Hong Kong Chinese. *Optom. Vis. Sci. Off. Publ. Am. Acad. Optom.* **1993**, *70*, 30–38. [CrossRef]
34. Bron, A.J.; Evans, V.E.; Smith, J.A. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* **2003**, *22*, 640–650. [CrossRef] [PubMed]
35. Armstrong, R.A.; Davies, L.N.; Dunne, M.C.; Gilmartin, B. Statistical guidelines for clinical studies of human vision. *Ophthalmic Physiol. Opt.* **2011**, *31*, 123–136. [CrossRef] [PubMed]
36. de Monchy, I.; Gendron, G.; Miceli, C.; Pogorzalek, N.; Mariette, X.; Labetoulle, M. Combination of the Schirmer I and phenol red thread tests as a rescue strategy for diagnosis of ocular dryness associated with Sjogren's syndrome. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 5167–5173. [CrossRef]
37. Hajian-Tilaki, K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Casp. J. Intern. Med.* **2013**, *4*, 627–635.
38. Nahm, F.S. Receiver operating characteristic curve: Overview and practical use for clinicians. *Korean J. Anesthesiol.* **2022**, *75*, 25–36. [CrossRef]
39. 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*, 232–237. [CrossRef]
40. Garcia-Queiruga, J.; Pena-Verdeal, H.; Sabucedo-Villamarin, B.; Garcia-Resua, C.; Giraldez, M.J.; Yebra-Pimentel, E. Analysis of the Differences in Ocular Surface Damage and Inflammatory Signs between Healthy and Evaporative Dry Eye Participants. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **2022**, 1–8. [CrossRef]
41. Kim, J.; Kim, J.Y.; Seo, K.Y.; Kim, T.I.; Chin, H.S.; Jung, J.W. Location and pattern of non-invasive keratographic tear film break-up according to dry eye disease subtypes. *Acta Ophthalmol.* **2019**, *97*, e1089–e1097. [CrossRef] [PubMed]
42. Lee, K.W.; Kim, J.Y.; Chin, H.S.; Seo, K.Y.; Kim, T.I.; Jung, J.W. Assessment of the Tear Meniscus by Strip Meniscometry and Keratograph in Patients with Dry Eye Disease According to the Presence of Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* **2017**, *36*, 189–195. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

43. Singh, A.; Vanathi, M.; Kishore, A.; Gupta, N.; Tandon, R. Evaluation of strip meniscometry, tear meniscus height and depth in the diagnosis of dry eye disease in asian Indian eyes. *Ocul. Surf.* **2019**, *17*, 747–752. [CrossRef] [PubMed]
44. Qiu, X.; Gong, L.; Lu, Y.; Jin, H.; Robitaille, M. The diagnostic significance of Fourier-domain optical coherence tomography in Sjogren syndrome, aqueous tear deficiency and lipid tear deficiency patients. *Acta Ophthalmol.* **2012**, *90*, e359–e366. [CrossRef] [PubMed]
45. Imamura, H.; Tabuchi, H.; Nakakura, S.; Nagasato, D.; Baba, H.; Kiuchi, Y. Usability and reproducibility of tear meniscus values generated via swept-source optical coherence tomography and the slit lamp with a graticule method. *Int. Ophthalmol.* **2018**, *38*, 679–686. [CrossRef]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO IX: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 2

Journal of *Clinical Medicine*

MDPI

Article

Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment

Belen Sabucedo-Villamarin [1,*], Jacobo Garcia-Queiruga [1,2], Hugo Pena-Verdeal [1,2,*], Carlos Garcia-Resua [1,2], Eva Yebra-Pimentel [1,2] and Maria J. Giraldez [1,2]

[1] GI-2092-Optometry, Departamento de Física Aplicada (Área de Optometría), Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida s/n, 15701 Santiago de Compostela, Spain; jacobogarcia.queiruga@usc.es (J.G.-Q.); carlos.garcia.resua@usc.es (C.G.-R.); eva.yebra-pimentel@usc.es (E.Y.-P.); mjesus.giraldez@usc.es (M.J.G.)
[2] Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS), Travesía da Choupana S/N, 15701 Santiago de Compostela, Spain
* Correspondence: belen.sabucedo@rai.usc.es (B.S.-V.); hugo.pena.verdeal@usc.es (H.P.-V.)

Abstract: Background: The aim of the present study was to establish a cut-off value of the Lipid Layer Pattern (LLP) between participants with different subtypes of Dry Eye Disease (DED) including Deficient Dry Eye (ADDE), Evaporative Dry Eye (EDE), and Mixed Dry Eye (MDE). **Methods**: 240 participants diagnosed with DED according to the Tear Film and Ocular Surface Society in the Dry Eye Workshop II guidelines were included in the study. Tear Meniscus Height (TMH) using the Tearscope illumination and Meibomian Gland Loss Area (MGLA) using the Keratograph 5M were assessed to categorize the participants into an ADDE group, EDE group, or MDE group. Then, the LLP was assessed using the Tearscope following the Guillon (LLP-G) and Colour (LLP-C) schemes. **Results**: Receiver Operating Characteristics (ROC) showed that both LLP-G and LLP-C have no diagnostic potential in distinguishing between ADDE and EDE participants (both $p \geq 0.724$). However, to differentiate the ADDE participants from the MDE, ROC procedures showed a good diagnostic potential with cut-off values of Closed Meshwork-Wave (AUC ± SD = 0.609 ± 0.049, $p = 0.038$, sensitivity: 23.9%; specificity: 76.1%) and Grey-White (AUC ± SD = 0.611 ± 0.050, $p = 0.034$, sensitivity: 40.7%; specificity: 73.9%) for LLP-G and LLP-C, respectively. Also, a significant potential to distinguish between the EDE from MDE participants was found, with cut-off values of Closed Meshwork (AUC ± SD = 0.604 ± 0.049, $p = 0.043$, sensitivity: 40.8%; specificity: 76.1%) and Grey-White (AUC ± SD = 0.604 ± 0.051, $p = 0.038$, sensitivity: 44.7%; specificity: 73.9%) for LLP-G and LLP-C, respectively. **Conclusions**: Using the Tearscope, both LLP-G and LLP-C has diagnostic potential to distinguish MDE participants from the other subtypes of DED.

Keywords: Lipid Layer Pattern (LLP); Aqueous Deficient Dry Eye (ADDE); Evaporative Dry Eye (EDE); Mixed Dry Eye (MDE); cut-off value

check for updates

Academic Editors: Brent Siesky and Yoshihiro Takamura

Received: 19 November 2024
Revised: 12 December 2024
Accepted: 17 January 2025
Published: 19 January 2025

Citation: Sabucedo-Villamarin, B.; Garcia-Queiruga, J.; Pena-Verdeal, H.; Garcia-Resua, C.; Yebra-Pimentel, E.; Giraldez, M.J. Diagnostic Cut-Off Values Based on Lipid Layer Pattern for Dry Eye Disease Subtypes Assessment. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 623. https://doi.org/10.3390/jcm14020623

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Dry Eye Disease (DED) is a prevalent condition, affecting 5% to 50% of the global population, posing a challenge for clinicians in their daily routines [1,2]. This condition is characterized by a hyperosmolarity environment, which compromises the homeostasis of the tear film. Consequently, the tear film becomes unstable, resulting in a loss of tear volume, a low break-up time of the tear film and an increased rate of evaporation of the tear from the ocular surface [3]. This is called the "Vicious Circle" of DED [4]. Hence, a correct tear film stability is indispensable in the maintenance of homeostasis and consequently the ocular surface integrity [3,4]. One of the components that plays an essential role in the

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

integrity and upkeep of the tear film is the lipid oil. This lipid oil composes the lipid layer and provides both stabilization and prevention from evaporation [3,5].

On the Tear Film and Ocular Surface Society's Dry Eye Workshop II (TFOS DEWS II), DED was classified into two main categories: Aqueous Deficient Dry Eye (ADDE), caused by lacrimal gland dysfunction, and Evaporative Dry Eye (EDE), associated with eyelid or meibomian gland abnormalities [6]. However, ADDE and EDE are not two separate entities; they coexist and commonly overlap, contributing to a third type, Mixed Dry Eye (MDE) [4]. MDE occurs when patients have both aqueous tear deficiency and eyelids and/or meibomian glands affected, and it is estimated that about 30% of patients with DED may suffer from this condition [7]. However, it depends on which component is the most affected as to whether it will tend towards a predominantly evaporative or aqueous deficiency [8]. The common methods used to classify DED patients into different subtypes imply the performing of several tests: the assessment of the tear film volume and the status and morphology of meibomian glands, which generates a time burden [8–10].

The lipid layer is an essential component of the tear film regardless of DED type [3]. The lipid layer can be assessed by evaluating the Lipid Layer Pattern (LLP) using ocular surface interferometers [5,11]. LLP can estimate the thickness of the tear film lipid layer, which could be a potential tool to differentiate between DED types in a simple way. A thinner LLP is attributed to an EDE and a thicker one to an ADDE [3,11,12]. Currently, correctly identifying a patient's DED subtype when considering the MDE subtype, in addition to the two main subtypes, can be time-consuming for clinicians because it requires at least two diagnostic tests. This highlights the need to find an easier and single diagnostic test, which simplifies the evaluation, as well as establish a cut-off criterion to distinguish between EDE and MDE or ADDE and MDE, which could establish a categorization rather than a tendency to be one type or the other [4,7]. Therefore, the aim of the present study was to provide a cut-off criterion that strongly discriminates between the DED subtypes including the MDE through the LLP assessment.

2. Materials and Methods

2.1. Sample

A total of 240 Caucasian participants from the northwest region of Spain were recruited from patients attending the Optometry Service for routine eye examinations. Of these, 185 were women and 55 men, with a mean age of 48.3 ± 16.5 years. The participants were selected based on their compatibility with a DED diagnostic based on TFOS DEWS II criteria. [6]. No one had a prior history of ocular surgery, systemic, or autoimmune diseases, were pregnant or breast-feeding, wore contact lenses or were under medical treatment. Written consent was obtained from all participants, and the study protocol received approval from the institution's Bioethics Committee (USC-08/2021), ensuring adherence to the principles of the Declaration of Helsinki.

2.2. Study Design and Diagnostic Criteria

As outlined in the TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report, a series of clinical tests were conducted and documented by a single examiner during one session to minimize interobserver and intersession variability, with measurements subsequently taken by a second blinded observer [11]. The entire study protocol was conducted under controlled environmental conditions, maintaining consistent light, a temperature range of 20–23 °C, and humidity levels between 50–60%.

Procedures were performed from least to most invasive and in the same order for all the participants: Ocular Surface Disease Index (OSDI), tear film osmolarity, Tear Meniscus

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Height (TMH) with Tearscope illumination LLP, Meibomian Gland Loss Area (MGLA), Fluorescein Break Up Time (FBUT), and corneal staining [6].

To diagnose DED, the following criteria were used: an OSDI score ≥ 13 combined with at least one of the following signs: tear film osmolarity ≥ 308 mOsm/L, FBUT < 10 s, and/or a corneal staining score ≥ 2 according to the Oxford Scheme (Figure 1) [4,6,13,14]. Once the participants were diagnosed with DED, the sample was divided into three groups following DED subtypes described in the TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report [6,9]:

- ADDE subtype: TMH ≤ 0.16 mm and MGLA < 50%.
- EDE subtype: TMH > 0.16 mm and MGLA ≥ 50%.
- MDE subtype: TMH ≤ 0.16 mm and MGLA ≥ 50%.

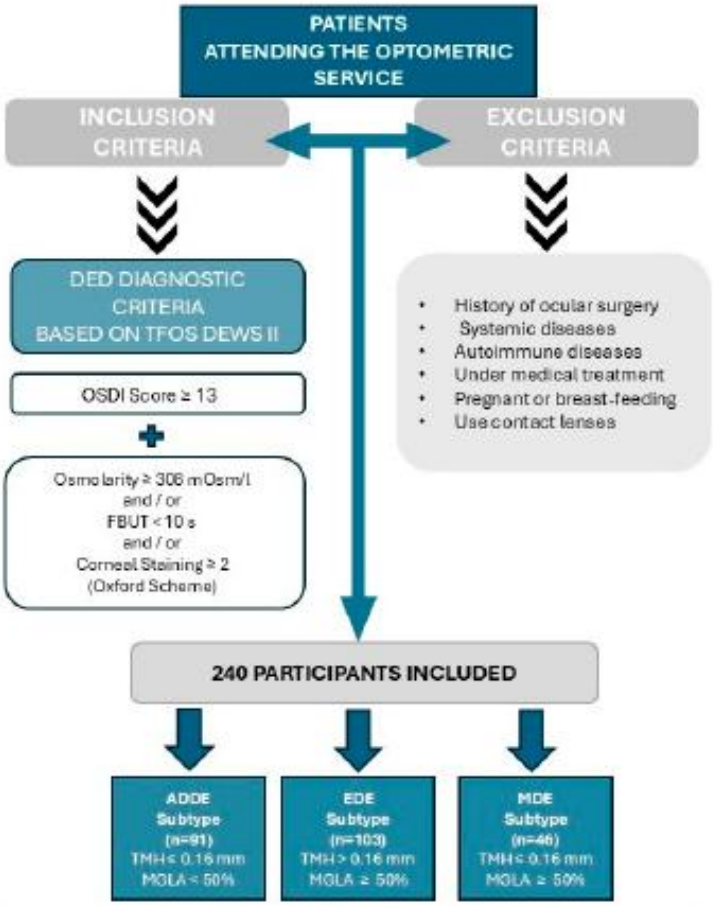


Figure 1. Study design and diagnostic criteria flowchart. DED = Dry Eye Disease; OSDI = Ocular Surface Disease Index; FBUT= Fluorescein Break Up Time; ADDE= Aqueous Deficient Dry Eye; EDE= Evaporative Dry Eye; MDE= Mixed Dry Eye. TMH = Tear Meniscus Height. MGLA= Meibomian Gland Loss Area.

2.3. Evaluation Procedures

2.3.1. Symptomatology Assessment

To quantify the DED symptomatology, the OSDI questionnaire was used, which includes 12 questions for a one-week recall, and was self-administered via a QR code

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

scanned on mobile devices [6,15,16]. Scores, ranging from 0 to 100 points, were assessed by the examiner following standardized guidelines, with higher values indicating greater disability [6,15,16].

2.3.2. Tear Film Osmolarity

Tear film osmolarity was measured using the TearLab osmometer (TearLab Corp, San Diego, CA, USA) [17]. Participants were seated and instructed to look upwards while the device's probe was carefully positioned on the lower tear meniscus. The examiner allowed the device to emit a beep, signalling that the sample had been successfully collected. [17]. The device translates the electrical impedance of the sample into osmolarity values (mOsm/L) within a range of 275 to 400 mOsm/L, displaying the results on its screen [17]. All measurements were conducted using test cards from the same lot to ensure consistency.

2.3.3. Fluorescein Break-Up Time

FBUT was assessed with the Keratograph 5M (Oculus Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany) and the fluorescein function provided by the device [18,19]. The participants were properly positioned and instructed to look up to the ceiling. Then, a fluorescein strip hydrated with saline was applied to the lower bulbar conjunctiva and participants were instructed to blink several times to ensure an adequate mixing of the dye [20]. Immediately after, they were asked to look straight at a red dot in the device and blink three times to record the FBUT videos. This procedure was repeated three times [9,20]. FBUT was defined as the time interval between the last blink and the appearance of the first dark spot [6,9]. Once the videos were extracted to the computer, the FBUT was assessed using VirtualDub64 v1.10.4, an open software which converts the video recorded into frames (1 s = 8 frames) [9].

2.3.4. Corneal Staining

Ocular surface damage was evaluated through corneal staining measured using the Keratograph 5M, immediately after recording FBUT videos and using the same illumination [18,21]. Participants were instructed to look at a central red dot and perform the four gaze positions while being video recorded [20,22]. After recording and extracting images, corneal staining was assessed using the Oxford Scheme, which grades damage severity from 0 to 5: 0–1 (mild), 2–3 (moderate), and 4–5 (severe).

2.3.5. Tear Meniscus Height

TMH was evaluated using a Tearscope interferometer (Tearscope, Keeler, Windsor, UK) attached to a Topcon SL-D4 slit lamp (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) [12]. To standardize the observation area across all videos, the Tearscope was fixed to the slit lamp, maintaining a consistent distance between the chinrest and the device throughout the imaging process. Participants were positioned at the slit lamp, maintaining their primary gaze while blinking naturally to allow observation of the lower tear meniscus. Videos of the meniscus were recorded using a Topcon DC4 camera (Topcon Corporation, Japan) attached to the slit lamp [23,24]. Images were extracted from the recorded videos and analyzed with ImageJ v1.53t software (National Institutes of Health, Bethesda, MD; (http://imagej.nih.gov/ij/ (accessed on 10 October 2024)) [9]. The ImageJ data, initially in pixels, were converted to millimetres for statistical analysis. According to a previous study, 300 pixels equated to 1 mm [9].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.3.6. Meibomian Gland Loss Area

The visualization of the meibomian glands was performed with the Keratograph 5M. The infrared illumination provided by the device facilitates the observation of the meibomian glands while the lids are everted [10]. The participants were properly positioned onto the device and requested to look up to the ceiling to evert the lower eyelid. Several meibography images were taken and exported from de Keratograph 5M to the computer. Images were extracted from the recorded videos and analyzed with ImageJ v1.53t software (National Institutes of Health, Bethesda, MD; http://imagej.nih.gov/ij/ (accessed on 10 October 2024)) [9]. MGLA categorization followed the Pult et al. [25] scale, featuring four grades: Grade 1 (<25% MGLA), Grade 2 (25–50% MGLA), Grade 3 (50–75% MGLA), and Grade 4 (>75% MGLA).

2.3.7. Lipid Layer Pattern

LLP was also assessed using the Tearscope interferometer [5]. The Tearscope is an interferometer that provides visualization of the LLP of the lipid layer for thickness estimation. Both the device and participants were positioned in the same position as the TMH measurement with their sight straight to the centre of the device, and were instructed to blink three times without squeezing. This process was repeated three times [5,11,26]. The entire process was video recorded. Immediately, LLP images were extracted, at the precise moment when the LLP was stabilized and totally expanded for one second after blinking. Then, LLP images were classified following two different scales.

- First, following the basic Lipid Layer Pattern Guillon's (LLP-G) scheme in five steps (Open Meshwork, Closed Meshwork, Wave, Amorphous, or Colour) with the intermediate of each as inter-categories [26]. A grade from 1 to 5, with middle steps, was assigned to analyze thickness from thinnest to thickest.
- Secondly, LLP images were classified in four steps following the Lipid Layer Pattern Colour (LLP-C) characteristics scheme (Grey, White, Yellow, Brown or higher) and the intermediate mixtures of colours as inter-categories [27]. A grade from 1 to 4, with middle steps, was assigned to analyze thickness from thinnest to thickest.

In the LLP image classification for both scales, the predominant grade present in the images was chosen. In the absence of this grade, the intermediate grade was chosen.

2.3.8. Statistical Analysis

The data were analyzed using SPSS statistical software version 25.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The significance level was established at $p \leq 0.05$ for all statistical tests. Prior to conducting the analysis, an assessment of data normality was conducted using the Kolmogorov–Smirnov test [28,29]. Results indicated that osmolarity and TMH data followed a normal distribution (Kolmogorov–Smirnov, all $p > 0.05$), whereas OSDI, MGLA, corneal staining, FBUT, and both LLP-G and LLP-C did not (Kolmogorov–Smirnov, all $p < 0.05$). Descriptive statistics were calculated using the mean and SD for parametric parameters, and the median with interquartile range (IQR) for non-parametric parameters. The range of minimum and maximum values was reported for both types of data. To assess differences in parameter values between DED subtypes, an ANOVA analysis along with Bonferroni post hoc for paired analyses was used on parametric parameters, whereas Kruskal–Wallis along with the Wilcoxon test for the paired measurement were applied on non-parametric parameters [30]; Bonferroni correction was applied on the Wilcoxon test by adjusting the significance value by the number of comparisons [31].

The study determined the best, both LLP-G and LLP-C, threshold by both classification methods using the Receiver Operating Characteristics (ROCs) analysis to differentiate between participants with different eye conditions [32–34]. This process involved evaluating

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

various threshold values and plotting sensitivity against (1-specificity) to determine the optimal threshold. The model's ability to differentiate conditions was assessed using the Area Under the Curve (AUC) ± SD, with values ranging from 0 (no prediction) to 1 (perfect prediction). Additionally, the 95% Confidence Intervals (CI) for the AUC were calculated (Mean ± 1.96 × SD), and the optimal threshold for each ROC curve was selected using Youden's J statistic (J = sensitivity + specificity − 1).

To validate the threshold value obtained, a cross-validation analysis was conducted. By using SPSS commands, a sample of 80% of the data was randomly selected, and the LLPs variables were converted into a binary parameter. The association with the initial diagnosis was assessed using Cramer's V, ranging from 0 (no prediction) to 1 (perfect prediction). The association between this new threshold and the initial diagnosis is based on the TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report using Cramer's V, which ranges from 0 (no predictive ability) to 1 (perfect predictive ability).

3. Results

Descriptive statistics for all the measurements of the sample are provided in Table 1, while descriptive statistics for all the measurements on each subgroup are provided in Table 2. The analysis showed that there was no general statistical difference in the osmolarity, FBUT, corneal staining, LLP-G or LLP-C distribution between DED subtype (all $p \geq 0.059$), whereas a statistical difference was found in the age, OSDI, TMH, and MGLA values (all $p \leq 0.001$) (Table 2).

Table 1. Descriptive statistics of the entire sample. n = 240.

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/L) *	FBUT (s) **	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	TMH (mm) *	MGLA **	LLP-G **	LLP-C **
Total Sample (n = 240)	Mean/ Median	48.3	26.04	322.38	5.27	1.00	0.186	53.92	Closed Meshwork	Grey/White
	SD/IQR	16.52	20.12–37.50	18.55	3.43–8.15	0.00–2.00	0.098	41.48–59.67	Open Meshwork/Closed Meshwork—Wave	Grey/White—White
	Minimum	19.0	13.36	282.00	1.29	0.00	0.060	10.24	Open Meshwork	Grey
	Maximum	81.0	83.33	400.00	65.13	4.00	0.640	82.22	Colour	Brown or higher

SD = Standard Deviation. IQR = Interquartile Range. OSDI = Ocular Surface Disease Index. FBUT = Fluorescein Break-Up Time. TMH = Tear Meniscus Height. MGLA = Meibomian Gland Loss Area. LLP-G = Lipid Layer Pattern Guillon Scheme. LLP-C = Lipid Layer Pattern Colour Scheme * Mean and SD displayed on parametric parameters. ** The median and interquartile range (IQR) were used to represent non-parametric parameters.

Table 2. Descriptive statistics of the groups.

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/l) *	FBUT (s) **	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	TMH (mm) *	MGLA **	LLP-G **	LLP-C **
ADDE (n = 91)	Mean/ Median	44.54	25.00	321.47	5.29	1.00	0.128	38.47	Closed Meshwork	Grey/White
	SD/IRQ	17.3	18.75–34.09	17.60	3.42–8.85	0.00–2.00	0.021	28.22–43.51	Open Meshwork/Closed Meshwork—Wave/ Amorphous	Grey/White—White/Yellow
	Minimum	19.0	13.36	292.00	1.33	0.00	0.080	10.24	Open Meshwork	Grey
	Maximum	71.0	81.25	400.00	21.83	4.00	0.160	48.78	Colour	Brown or higher

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2. *Cont.*

		Age (Years) *	OSDI (Score) **	Osmolarity (mOsm/l) *	FBUT (s) **	Corneal Staining (Oxford Scheme) **	TMH (mm) *	MGLA **	LLP-G **	LLP-C **
EDE (n = 103)	Mean/ Median	52.7	25.0	322.56	4.79	1.00	0.260	57.02	Closed Meshwork	Grey/White
	SD/IRQ	15.5	20.0–36.36	19.65	3.38–7.38	0.00–2.00	0.110	54.18–62.90	Closed Meshwork—Wave	Grey/White—White
	Minimum	20.0	13.36	282.00	1.29	0.00	0.160	50.38	Open Meshwork	Grey
	Maximum	81.0	83.33	400.00	65.13	4.00	0.640	79.56	Colour	Brown or higher
MDE (n = 46)	Mean/ Median	46.0	35.42	323.78	5.77	1.00	0.129	59.16	Closed Meshwork	Grey/White
	SD/IRQ	15.1	24.43–43.23	18.15	4.02–9.67	0.00–2.00	0.022	55.70–65.01	Open Meshwork—Closed Meshwork	Grey-White
	Minimum	20.0	13.50	284.00	1.75	0.00	0.060	50.38	Open Meshwork	Grey
	Maximum	70.0	75.00	373.00	23.13	4.00	0.160	82.22	Amorphous	Yellow/Brown or higher
	p	0.001 ‡	0.001 †	0.784 ‡	0.190 †	0.655 †	<0.001 ‡	<0.001 †	0.066 †	0.059 †

SD = Standard Deviation. IQR = Interquartile Range. OSDI = Ocular Surface Disease Index. FBUT = Fluorescein Break-Up Time. TMH-Tc = Tear Meniscus Height. MGLA = Meibomian Gland Loss Area. LLP-G = Lipid Layer Pattern Guillon Scheme. LLP-C= Lipid Layer Pattern Colour Scheme, ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye, EDE = Evaporative Dry Eye, MDE = Mixed Dry Eye. * Mean and SD displayed on parametric parameters. ** The median and interquartile range (IQR) were used to represent non-parametric parameters. ‡ ANOVA for repeated measurements. † Kruskal–Wallis test.

3.1. Analysis of LLPs Cut-Off Threshold Values to Differentiate ADDE from EDE Participants

The pairwise analysis showed that there was no statistical difference in the OSDI, osmolarity, FBUT, corneal staining, LLP-G, or LLP-C distribution between groups (all $p \geq 0.376$), whereas a statistical difference was found in the age, TMH, and MGLA and values (all $p \leq 0.002$) (Table 2). The ROC analysis indicated that both LLP-G and LLP-C possesses no diagnostic potential in distinguishing between participant subtypes with an AUC ± SD = 0.515 ± 0.042 ($p = 0.724$, 95% CI = 0.433–0.597) and AUC = 0.509 ± 0.042 ($p = 0.832$, 95% CI = 0.427–0.591), respectively (Figure 2).

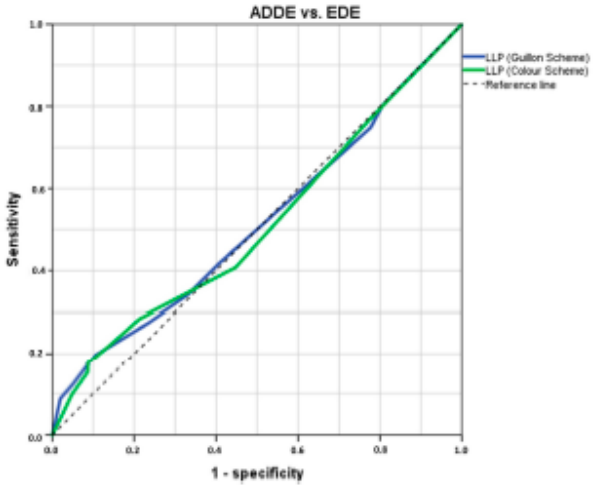


Figure 2. The ROC curve was generated to assess the sensitivity and specificity of the LLP in distinguishing between ADDE and EDE based on theoretical thresholds. The optimal cut-off value

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

was selected at the inflexion point of the curve. n = 194. LLP = Lipid Layer Pattern; ROC = Receiver Operating Characteristic; ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye; EDE = Evaporative Dry Eye.

3.2. Analysis of LLPs Cut-Off Threshold Values to Differentiate ADDE from MDE Participants

The pairwise analysis showed that there was no statistical difference in age, osmolarity, FBUT, corneal staining, or TMH distribution between groups (all $p \geq 0.062$), whereas a statistical difference was found in the OSDI, MGLA, LLP-G, and LLP-C values (all $p \leq 0.032$) (Table 2).

The ROC analysis indicated that both LLP-G and LLP-C possess diagnostic potential in distinguishing between participant types with an AUC ± SD = 0.609 ± 0.049 ($p = 0.038$, 95% CI = 0.513–0.705) and AUC ± SD = 0.611 ± 0.050 ($p = 0.034$, 95% CI = 0.513–0.709), respectively (Figure 3). By computing the Youden's index for LLP-G (Youden's J statistic = 0.179) or LLP-C (Youden's J statistic = 0.146), a cut-off value of Closed Meshwork–Wave (sensitivity: 23.9%; specificity: 76.1%) and Grey-White (sensitivity: 40.7%; specificity: 73.9%) were identified for discriminating between ADDE and MDE participants, respectively. In the cross-validation analysis using an 80% random sample, an association was found between both calculated LLP cut-off values and the previously proposed diagnostic criteria of TFOS DEWS II for distinguishing between ADDE and EDE participants (both, Cramér's V ≥ 0.175, $p \leq 0.041$).

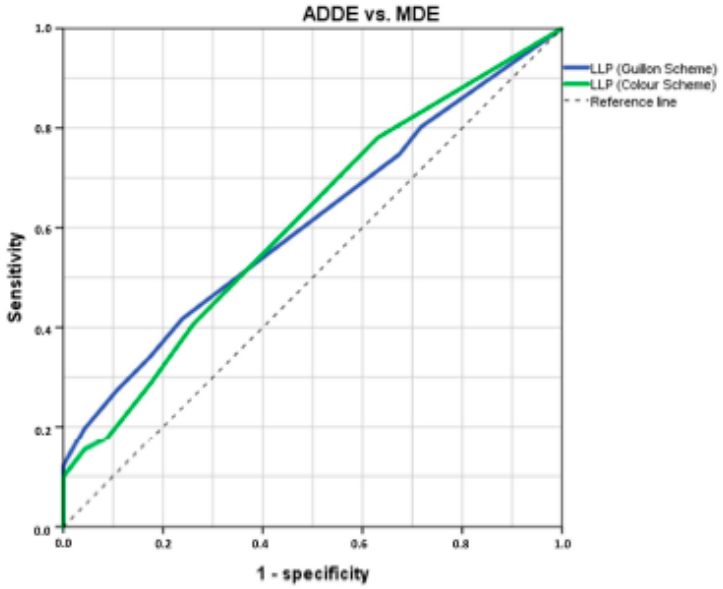


Figure 3. The ROC curve was generated to assess the sensitivity and specificity of the LLP in distinguishing between ADDE and MDE based on theoretical thresholds. The optimal cut-off value was selected at the inflexion point of the curve. n = 137. LLP = Lipid Layer Pattern; ROC = Receiver Operating Characteristic; ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye; MDE = Mixed Dry Eye.

3.3. Analysis of LLPs Cut-Off Threshold Values to Differentiate EDE from MDE Participants

The pairwise analysis showed that there was no statistical difference in age, osmolarity, FBUT, corneal staining or MGLA distribution between groups (all $p \geq 0.757$), whereas a statistical difference was found in the OSDI, TMH, LLP-G, and LLP-C values (all $p \leq 0.036$) (Table 2).

The ROC analysis indicated that both LLP-G and LLP-C possesses diagnostic potential in distinguishing between participant types with an AUC ± SD = 0.604 ± 0.049

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

($p = 0.043$, 95% CI = 0.508–0.700) and AUC ± SD = 0.604 ± 0.051 ($p = 0.038$, 95% CI = 0.504–0.704), respectively (Figure 3). By computing the Youden's index for LLP-G (Youden's J statistic = 0.169) or LLP-C (Youden's J statistic = 0.617), a cut-off value of Closed Meshwork (sensitivity: 40.8%; specificity: 76.1%) and Grey-White (sensitivity: 44.7%; specificity: 73.9%) were identified for discriminating between EDE and MDE participants, respectively (see Figure 4). In the cross-validation analysis using an 80% random sample, a strong association was found between both calculated LLP cut-off values and the previously proposed diagnostic criteria of TFOS DEWS II for distinguishing between ADDE and EDE participants (both, Cramér's V ≥ 0.202, $p \leq 0.021$).

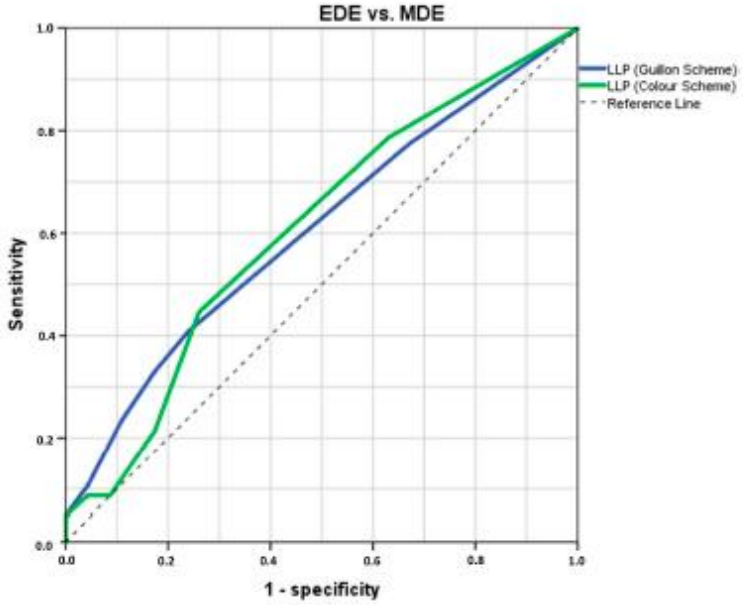


Figure 4. The ROC curve was generated to assess the sensitivity and specificity of the LLP in distinguishing between EDE and MDE based on theoretical thresholds. The optimal cut-off value was selected at the inflexion point of the curve. n = 149. LLP = Lipid Layer Pattern; ROC = Receiver Operating Characteristic; ADDE = Aqueous Deficiency Dry Eye; MDE = Mixed Dry Eye.

4. Discussion

DED is a global condition that represents a challenge in both its management and diagnosis. In this context, the identification of the subtypes has a fundamental relevance [2]. DED has been mainly subdivided into ADDE and EDE subgroups, whereas in the daily practice, this differentiation is not so strict. To distinguish between ADDE from EDE participants, there is a consensus among authors in the use of the TMH or Schirmer as potential diagnosis tests, where cut-off criterions have been stated [6,8,9,35,36]. Also, MGLA has been used to grade the severity of EDE subtype [6,36]. However, there are a significant number of patients who show a combination of signs of both types that are often difficult to differentiate, those known and classified as MDE [1,36,37]. The diagnosis of MDE patients lies in performing the battery of specific tests from both ADDE and EDE subtypes [4,6]. This can be time-consuming and creates the need for simplification to a single diagnostic test. Therefore, the use of the LLP assessment could be useful for establishing cut-off values to differentiate between DED subtypes.

Previous researchers have used the LipiView (J&J Surgical Vision Inc., Irvine, CA, USA) interferometer to measure the lipid layer thickness, and found thinner lipid layers in

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

participants with obstructive meibomian gland disfunction and higher OSDI and SPEED tests values [38,39]. Arita et al. [40] measured the lipid layer thickness with the LipiView interferometer and the LLP with the Kowa DR-1α, reporting that thicker lipid layers were related to the LLP of multicoloured interferometric fringes. Also, Remeseiro et al. [41] stated that lower lipid layer thickness was associated with lower grades on both Guillon's and Colour schemes. These findings are consistent with those of the present study, specifically because the mean LLP values obtained were within LLP-G from Open Meshwork to Closed Meshwork and within LLP-C from Grey to White, corresponding with the thinnest lipid layers. Also, it should be noted that in the present study, the sample included was entirely composed of DED participants, the EDE subtype being the most prevalent, which explains this trend in the lower LLP grades [4,42]. Additionally, it is important to note that all groups exhibited a similar distribution in terms of the diagnostic criteria of DED. However, significant differences were observed in the classification criteria, where MDE participants had higher OSDI scores, and EDE participants were older than in the other groups.

Chou et al. [38] observed that eyes with thinner lipid layers are more likely to have higher aqueous tear production, and suggested that regardless of the type of DED, the assessment of the LLP could serve as a useful test for DED diagnosis.

The present study found similar results among EDE groups where higher tear production was expected, and showed a Closed Meshwork and Grey-White patterns, representing the thinner lipid layers. On the other hand, participants of the ADDE group that had poor tear production showed thicker lipid layers. These findings encourage the study of the potential diagnostic capability of the LLP; unfortunately, both LLP-G and LLP-C schemes were not able to classify the participants into ADDE or EDE subgroups. This could be due to the fact that the LLP is thinner in EDE (IQR = Closed Meshwork − Wave) but is even thinner in MDE (IQR = Open Meshwork − Closed Meshwork), suggesting that the LLP assessment is not only influenced by lipid production but also by changes in the aqueous layer of the tear film. In EDE, the thinning of the LLP may be mainly due to lipid deficiency, whereas in MDE, both lipid deficiency and changes in the aqueous component contribute to a more pronounced thinning of the LLP. Consequently, the LLP test has difficulty in differentiating between ADDE and EDE as it does not fully capture the complexity of tear film changes in EDE where aqueous influences are less significant. However, the LLP assessment differentiates better between MDE and ADDE and EDE. By setting cut-off values for LLP-G Closed Meshwork-Wave and LLP-C Grey-White, it is possible to differentiate between ADDE and MDE. Similarly, by using the cut-off values for LLP-G Closed Meshwork-Wave and LLP-C Grey-White, it is possible to differentiate between EDE and MDE. The AUC values observed for these were relatively modest, consistent with the previous description of the influence of the aqueous layer on LLP.

Besides the differentiation between ADDE and EDE subtypes from MDE subtype, LLP assessment can also provide information on disease severity when an MDE participant is identified. Since MDE participants have at least a TMH worse than an EDE along with an MGLA greater than an ADDE, the present study showed that the measurement of LLP can estimate the tendency for one of the main DED subtypes of those participants diagnosed as MDE.

The main strength of the study was the large sample size of 240 participants and the provision of a cut-off criterion for LLP assessment to avoid misdiagnosis of participants with MDE. These participants are typically excluded from studies to avoid interference, which can lead to a poorer prognosis. Conversely, the main limitations were the inability of this test to differentiate between ADDE and EDE subtypes, as well as the lower number of participants in the MDE subgroup compared to the other subgroups. In addition, it should be noted that identifying the LLP using different scales requires an experienced

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

examiner. Future studies should validate similar techniques with other interferometers and scales to ensure that this approach is accessible to all clinicians, regardless of their available instrumentation, enabling widespread use of the procedure. As a potential direction for future research, the implementation of this cut-off criterion could play a significant role in the development of an automated system, which could be integrated into multidiagnostic devices. By incorporating this threshold into such devices, it would be possible to streamline the diagnostic process, offering clinicians a more efficient and accurate tool for assessing the severity of dry eye disease. This integration could reduce the need for multiple, time-consuming tests and enhance clinical decision-making, ultimately improving patient outcomes.

5. Conclusions

To conclude, the present study proposed an LLP cut-off criterion for Guillon and Colour schemes to differentiate MDE participants from ADDE and EDE participants. This quicker and single procedure not only eliminates the need for an extensive test battery but also enhances the diagnosis of patients with DED. Additionally, it enables more accurate classification of disease severity, ultimately aiding clinicians in providing more effective treatment.

Author Contributions: Conceptualization, H.P.-V., J.G.-Q., C.G.-R., M.J.G. and E.Y.-P.; data curation, H.P.-V., J.G.-Q., B.S.-V. and C.G.-R.; formal analysis, H.P.-V., J.G.-Q. and B.S.-V.; investigation, H.P.-V., J.G.-Q., B.S.-V. and C.G.-R.; methodology, H.P.-V., J.G.-Q. and B.S.-V.; project administration, H.P.-V., B.S.-V., C.G.-R., M.J.G. and E.Y.-P.; resources, C.G.-R., M.J.G. and E.Y.-P.; supervision, H.P.-V., C.G.-R., M.J.G. and E.Y.-P.; validation, J.G.-Q.; visualization, H.P.-V., M.J.G. and E.Y.-P.; writing—original draft, H.P.-V., J.G.-Q. and B.S.-V.; writing—review and editing, C.G.-R., M.J.G. and E.Y.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding. The provided details are accurate and follow the standard spelling of funding agency names as listed on https://search.crossref.org/funding (accessed on 14 November 2024).

Institutional Review Board Statement: The study was performed following the principles outlined in the Declaration of Helsinki and received approval from the Ethics Committee of the Universidade de Santiago de Compostela (USC-08/2021). Approval date is 22 March 2021.

Informed Consent Statement: Written informed consent has been obtained from the patient to publish this paper.

Data Availability Statement: Data is unavailable due to privacy restrictions.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Stapleton, F.; Alves, M.; Bunya, V.Y.; Jalbert, I.; Lekhanont, K.; Malet, F.; Na, K.S.; Schaumberg, D.; Uchino, M.; Vehof, J.; et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 334–365. [CrossRef] [PubMed]
2. Cutrupi, F.; De Luca, A.; Di Zazzo, A.; Micera, A.; Coassin, M.; Bonini, S. Real Life Impact of Dry Eye Disease. *Semin. Ophthalmol.* **2023**, *38*, 690–702. [CrossRef] [PubMed]
3. Willcox, M.D.P.; Argueso, P.; Georgiev, G.A.; Holopainen, J.M.; Laurie, G.W.; Millar, T.J.; Papas, E.B.; Rolland, J.P.; Schmidt, T.A.; Stahl, U.; et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 366–403. [CrossRef] [PubMed]
4. Craig, J.P.; Nichols, K.K.; Akpek, E.K.; Caffery, B.; Dua, H.S.; Joo, C.K.; Liu, Z.; Nelson, J.D.; Nichols, J.J.; Tsubota, K.; et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 276–283. [CrossRef] [PubMed]
5. Guillon, J.P. Abnormal lipid layers. Observation, differential diagnosis, and classification. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *438*, 309–313. [PubMed]
6. Wolffsohn, J.S.; Arita, R.; Chalmers, R.; Djalilian, A.; Dogru, M.; Dumbleton, K.; Gupta, P.K.; Karpecki, P.; Lazreg, S.; Pult, H.; et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 539–574. [CrossRef]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7. Jones, L.; Downie, L.E.; Korb, D.; Benitez-Del-Castillo, J.M.; Dana, R.; Deng, S.X.; Dong, P.N.; Geerling, G.; Hida, R.Y.; Liu, Y.; et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul. Surf.* **2017**, *15*, 575–628. [CrossRef] [PubMed]
8. Tsubota, K.; Yokoi, N.; Watanabe, H.; Dogru, M.; Kojima, T.; Yamada, M.; Kinoshita, S.; Kim, H.M.; Tchah, H.W.; Hyon, J.Y.; et al. A New Perspective on Dry Eye Classification: Proposal by the Asia Dry Eye Society. *Eye Contact Lens* **2020**, *46* (Suppl. S1), S2–S13. [CrossRef] [PubMed]
9. Sabucedo-Villamarin, B.; Pena-Verdeal, H.; Garcia-Queiruga, J.; Giraldez, M.J.; Garcia-Resua, C.; Yebra-Pimentel, E. Categorization of the Aqueous Deficient Dry Eye by a Cut-Off Criterion of TMH Measured with Tearscope. *Life* **2022**, *12*, 2007. [CrossRef]
10. Fineide, F.; Arita, R.; Utheim, T.P. The role of meibography in ocular surface diagnostics: A review. *Ocul. Surf.* **2021**, *19*, 133–144. [CrossRef]
11. Garcia-Resua, C.; Pena-Verdeal, H.; Minones, M.; Giraldez, M.J.; Yebra-Pimentel, E. Interobserver and intraobserver repeatability of lipid layer pattern evaluation by two experienced observers. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2014**, *37*, 431–437. [CrossRef] [PubMed]
12. Guillon, J.P. Use of the Tearscope Plus and attachments in the routine examination of the marginal dry eye contact lens patient. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *438*, 859–867. [CrossRef]
13. Garcia-Queiruga, J.; Pena-Verdeal, H.; Sabucedo-Villamarin, B.; Giraldez, M.J.; Garcia-Resua, C.; Yebra-Pimentel, E. A cross-sectional study of non-modifiable and modifiable risk factors of dry eye disease states. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2023**, *46*, 101800. [CrossRef]
14. Sabucedo-Villamarin, B.; Pena-Verdeal, H.; Garcia-Queiruga, J.; Giraldez, M.J.; Garcia-Resua, C.; Yebra-Pimentel, E. Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease. *Ocul. Surf.* **2023**, *29*, 298–300. [CrossRef]
15. Schiffman, R.M.; Christianson, M.D.; Jacobsen, G.; Hirsch, J.D.; Reis, B.L. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch. Ophthalmol.* **2000**, *118*, 615–621. [CrossRef]
16. Miller, K.L.; Walt, J.G.; Mink, D.R.; Satram-Hoang, S.; Wilson, S.E.; Perry, H.D.; Asbell, P.A.; Pflugfelder, S.C. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch. Ophthalmol.* **2010**, *128*, 94–101. [CrossRef] [PubMed]
17. Tavakoli, A.; Markoulli, M.; Flanagan, J.; Papas, E. The validity of point of care tear film osmometers in the diagnosis of dry eye. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2022**, *42*, 140–148. [CrossRef] [PubMed]
18. Zhu, K.; Xie, W.; Ying, J.; Yao, Y. Evaluation of tear film and meibomian gland function in dry eye patients using Keratograph 5M. *Zhejiang Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban J. Zhejiang University. Med. Sci.* **2016**, *45*, 422–428. [CrossRef]
19. Itokawa, T.; Suzuki, T.; Koh, S.; Hori, Y. Evaluating the Differences Between Fluorescein Tear Break-up Time and Noninvasive Measurement Techniques. *Eye Contact Lens* **2023**, *49*, 104–109. [CrossRef] [PubMed]
20. Zhao, S.; Le, Q. Analysis of the first tear film break-up point in Sjogren's syndrome and non-Sjogren's syndrome dry eye patients. *BMC Ophthalmol.* **2022**, *22*, 1. [CrossRef]
21. Inferrera, L.; Aragona, E.; Wylegala, A.; Valastro, A.; Latino, G.; Postorino, E.I.; Gargano, R.; Orzechowska-Wylegala, B.; Wylegala, E.; Roszkowska, A.M. The Role of Hi-Tech Devices in Assessment of Corneal Healing in Patients with Neurotrophic Keratopathy. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 602. [CrossRef] [PubMed]
22. Bron, A.J.; Evans, V.E.; Smith, J.A. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* **2003**, *22*, 640–650. [CrossRef]
23. Lam, A.K.; Tai, S.K.; Chan, J.K.; Ng, R.W. Lower Tear Meniscus Height Measurements Using Keratography and Swept-Source Optical Coherence Tomography and Effect of Fluorescein Instillation Methods. *Curr. Eye Res.* **2019**, *44*, 1203–1208. [CrossRef] [PubMed]
24. Garcia-Resua, C.; Santodomingo-Rubido, J.; Lira, M.; Giraldez, M.J.; Vilar, E.Y. Clinical assessment of the lower tear meniscus height. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2009**, *29*, 487–496. [CrossRef]
25. Pult, H.; Riede-Pult, B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2013**, *36*, 22–27. [CrossRef] [PubMed]
26. Guillon, J.P. Non-invasive Tearscope Plus routine for contact lens fitting. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **1998**, *21* (Suppl. S1), S31–S40. [CrossRef] [PubMed]
27. Korb, D.R.; Baron, D.F.; Herman, J.P.; Finnemore, V.M.; Exford, J.M.; Hermosa, J.L.; Leahy, C.D.; Glonek, T.; Greiner, J.V. Tear film lipid layer thickness as a function of blinking. *Cornea* **1994**, *13*, 354–359. [CrossRef] [PubMed]
28. Armstrong, R.A.; Davies, L.N.; Dunne, M.C.; Gilmartin, B. Statistical guidelines for clinical studies of human vision. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2011**, *31*, 123–136. [CrossRef] [PubMed]
29. Armstrong, R.A. Statistical guidelines for the analysis of data obtained from one or both eyes. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2013**, *33*, 7–14. [CrossRef] [PubMed]
30. Armstrong, R.A. Recommendations for analysis of repeated-measures designs: Testing and correcting for sphericity and use of manova and mixed model analysis. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2017**, *37*, 585–593. [CrossRef] [PubMed]
31. Armstrong, R.A. When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt.* **2014**, *34*, 502–508. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

32. de Monchy, I.; Gendron, G.; Micœli, C.; Pogorzalek, N.; Mariette, X.; Labetoulle, M. Combination of the Schirmer I and phenol red thread tests as a rescue strategy for diagnosis of ocular dryness associated with Sjogren's syndrome. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 5167–5173. [CrossRef] [PubMed]
33. Hajian-Tilaki, K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Casp. J. Intern. Med.* **2013**, *4*, 627–635.
34. Nahm, F.S. Receiver operating characteristic curve: Overview and practical use for clinicians. *Korean J. Anesthesiol.* **2022**, *75*, 25–36. [CrossRef] [PubMed]
35. Niedernolte, B.; Trunk, L.; Wolffsohn, J.S.; Pult, H.; Bandlitz, S. Evaluation of tear meniscus height using different clinical methods. *Clin. Exp. Optom.* **2021**, *104*, 583–588. [CrossRef]
36. Asiedu, K.; Dzasimatu, S.K.; Kyei, S. Clinical subtypes of dry eye in youthful clinical sample in Ghana. *Contact Lens Anterior Eye J. Br. Contact Lens Assoc.* **2019**, *42*, 206–211. [CrossRef]
37. Ji, Y.W.; Seong, H.; Seo, J.G.; Park, S.Y.; Alotaibi, M.; Choi, M.; Nam, S.; Kim, T.I.; Lee, H.K.; Seo, K.Y. Evaluation of dry eye subtypes and characteristics using conventional assessments and dynamic tear interferometry. *Br. J. Ophthalmol.* **2022**, *106*, 1648–1654. [CrossRef] [PubMed]
38. Chou, Y.B.; Fan, N.W.; Lin, P.Y. Value of lipid layer thickness and blinking pattern in approaching patients with dry eye symptoms. *Can. J. Ophthalmol. J. Can. D'ophtalmologie* **2019**, *54*, 735–740. [CrossRef] [PubMed]
39. Eom, Y.; Lee, J.S.; Kang, S.Y.; Kim, H.M.; Song, J.S. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *Am. J. Ophthalmol.* **2013**, *155*, 1104–1110.e1102. [CrossRef] [PubMed]
40. Arita, R.; Morishige, N.; Fujii, T.; Fukuoka, S.; Chung, J.L.; Seo, K.Y.; Itoh, K. Tear Interferometric Patterns Reflect Clinical Tear Dynamics in Dry Eye Patients. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 3928–3934. [CrossRef]
41. Remeseiro, B.; Bolon-Canedo, V.; Peteiro-Barral, D.; Alonso-Betanzos, A.; Guijarro-Berdinas, B.; Mosquera, A.; Penedo, M.G.; Sanchez-Marono, N. A methodology for improving tear film lipid layer classification. *IEEE J. Biomed. Health Inform.* **2014**, *18*, 1485–1493. [CrossRef]
42. Rolando, M.; Merayo-Lloves, J. Management Strategies for Evaporative Dry Eye Disease and Future Perspective. *Curr. Eye Res.* **2022**, *47*, 813–823. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO X: ARTÍCULO PUBLICACIÓN ESTUDIO 3

The Ocular Surface 29 (2023) 298–300

Contents lists available at ScienceDirect

The Ocular Surface

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jtos

Longitudinal analysis of variation in status and diagnostic stability of untreated dry eye disease

Dry eye disease (DED) is a complex ocular condition caused by tear film homeostasis disruption, resulting in ocular signs and symptoms [1]. The Tear Film and Ocular Surface Society Dry Eye Workshop (TFOS DEWS II) introduced a diagnostic methodology that considers not only the presence or absence of symptoms and signs, but also accounts for cases of symptoms without obvious signs (Pre-clinical DED) and marked signs without symptoms (Predisposition to DED) [1]. However, there is a lack of well-designed studies that track changes in DED statuses, signs, symptoms, severity, or the natural history of treated and untreated patients. TFOS DEWS II emphasizes the need for well-designed studies to estimate the natural course of the disease [1]. This study aims to analyse the status variation in untreated DED participants over 4, 6, and 8 years.

For the initial examination, all subjects were referred to the clinic by their medical doctors with a dry eye-related diagnosis. Prospective participants were contacted for a second visit. The entire sample was randomly divided into three groups: 1) 4-year follow-up group, where from the 35 subjects initially offered, 26 participants were recruited (50.9 ± 11.0 years at first visit; error between visits = −11.0 ± 17.8 days), 2) 6-year follow-up group, where from the 35 subjects initially offered, 15 participants were recruited (46.8 ± 11.2 years at first visit; error between visits = −9.5 ± 19.5 days), and, 3) 8-year follow-up group, where from the 35 subjects initially offered, 31 participants were recruited (50.1 ± 8.5 years at first visit; error between visits = 1.8 ± 18.8 days). Informed consent was obtained from all participants, and the study protocol adhered to the Declaration of Helsinki and was approved by the institution's Ethics Committee.

The TFOS DEWS II Diagnostic Methodology Subcommittee criteria was employed to assess the status of each participant in both visits, which included: 1) OSDI questionnaire (cut-off $\geq$ 13), tear osmolarity (cut-off $\geq$ 308 mOsm/L in one eye or inter-eye difference $<$ 8 mOsm/L), tear film break-up time (TFBUT, cut-off $<$ 10 s), and corneal staining (cut-off, Oxford grade $\geq$ 2) [1–3]. All procedures were performed by the same blinded observer, and data were subsequently coded for analysis. Both eyes of each participant were evaluated [1–3]. Participants were categorized into four groups based on signs and symptoms according to TFOS DEWS II criteria: No DED, Pre-clinical DED, Predisposition to DED, and DED [1–3]. Due to the categorical nature of the data participants were compared based on their status using a crosstable design in each follow-up group. Fisher's exact test was assessed to analyse the association between statuses, Cramer's V measured the correlation between initial and final diagnoses, and the Wilcoxon test was used to analyse status variation between visits.

In the 4-year follow-up group, the number of cases of No DED and DED remained stable between visits, while Pre-clinical DED cases decreased and Predisposition to DED cases increased (Table 1). Nevertheless, no association was found between status classification across visits (Fisher, $p = 0.557$), no correlation between the initial and final diagnosis (Cramer's V, $p = 0.213$), and no significant differences in status variation between visits (Wilcoxon, $p = 0.783$).

In the 6-year follow-up group, the number of cases of No DED and DED remained relatively stable between visits, while Pre-clinical DED cases increased and Predisposition to DED cases decreased (Table 1). However, no significant association between status classification (Fisher, $p = 0.114$) or differences in status between visits (Wilcoxon, $p = 0.739$) were found. Conversely, there was a correlation between the initial and final diagnosis (Cramer's $V = 0.565$, $p = 0.048$).

In the 8-year follow-up group, the number of cases for all status categories remained relatively stable between visits (Table 1). A significant association in status classification between visits (Fisher, $p < 0.001$), and a correlation between the initial and final diagnosis (Cramer's $V = 0.819$, $p < 0.001$) were found. However, no significant differences in status were observed between visits (Wilcoxon, $p = 0.317$).

The present study aimed to investigate the natural history of the status in untreated DED participants over an extended period. In the 4-year follow-up group, no significant associations were found, suggesting that while some variation could appear in the status, there was no linear relationship between categories. Additionally, the lack of correlation between the initial and final diagnosis implies that in short periods the disease may exhibit heterogeneity in its progression. However, at the 6-year follow-up, a correlation between the initial and final diagnosis was observed. This indicates that the disease may have shown a tendency towards consistency in its diagnostic profile over a longer period. Nonetheless, the absence of significant differences in status suggests that the disease's overall progression remained relatively stable during this time. Remarkably, the 8-year follow-up revealed significant associations between status classification at both visits and a strong correlation between the initial and final diagnosis. These findings suggest that disease status became more consistent and predictable over time, potentially aiding in prognosis and treatment planning. Nevertheless, the absence of significant differences in status indicates that the disease's overall status had not changed substantially during the studied extended period.

To date, there is a paucity of studies describing the natural progression of untreated DED. Previous reports have proposed a theoretical model outlining three stages of DED development (Initiation, reflex compensation, and loss of compensatory response). This model suggests that the disease may worsen over time without intervention, possibly reaching a plateau at a certain stage. This hypothesis aligns with the present results, where the shorter follow-up group showed unstable or inconsistent outcomes, while the longer follow-up group showed lower significant variation. Previous studies have established an average duration of DED progression (10.5–14.5 years), which is longer than the duration studied here, which may explain the initial inconsistent results [4]. Moreover, prior research has demonstrated the evolution of DED

https://doi.org/10.1016/j.jtos.2023.06.004
Received 1 June 2023; Accepted 4 June 2023
Available online 5 June 2023
1542-0124/© 2023 Elsevier Inc. All rights reserved.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1
Cross-table of the number of cases between severity status diagnosis in the first and second visit. n = 72. DED: Dry Eye Disease.

			Visit 2				Total (initial diagnostic)	No variation	Variation
			No DED	Pre-clinical dry eye state	Predisposition to dry eye	DED			
Visit 1	4-year follow-up	No DED	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)	0 (0.0%)	1 (3.8%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)
		Pre-clinical dry eye state	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (50.0%)	1 (50.0%)	2 (7.7%)	0 (0.0%)	2 (100.0%)
		Predisposition to dry eye	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (60.0%)	2 (40.0%)	5 (19.2%)	3 (60.0%)	2 (40.0%)
		DED	1 (5.6%)	1 (5.6%)	4 (22.2%)	12 (66.7%)	18 (69.2%)	12 (66.7%)	6 (33.3%)
		Total (final diagnostic)	1 (3.8%)	1 (3.8%)	9 (34.6%)	15 (57.7%)		15 (57.7%)	11 (42.3%)
	6-year follow-up	No DED	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	–	–
		Pre-clinical dry eye state	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)	1 (6.7%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)
		Predisposition to dry eye	0 (0.0%)	2 (66.7%)	0 (0.0%)	1 (33.3%)	3 (20.0%)	0 (0.0%)	3 (100.0%)
		DED	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (18.2%)	9 (81.8%)	11 (73.3%)	9 (81.8%)	2 (18.2%)
		Total (final diagnostic)	0 (0.0%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)	11 (73.3%)		9 (60.0%)	6 (40.0%)
	8-year follow-up	No DED	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	–	–
		Pre-clinical dry eye state	1 (100.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)
		Predisposition to dry eye	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4 (66.7%)	2 (33.3%)	6 (19.4%)	4 (66.7%)	2 (33.3%)
		DED	0 (0.0%)	1 (4.2%)	2 (8.3%)	21 (87.5%)	24 (77.4%)	21 (87.5%)	3 (12.5%)
		Total (final diagnostic)	1 (3.2%)	1 (3.2%)	6 (19.4%)	23 (74.2%)		25 (80.6%)	6 (19.4%)

severity and its association with other inflammatory diseases not presented here [5]. In the present study, it has not been assessed the severity of DED participants, however, based on reported symptoms and signs and their "untreated" status, they may presume to be mild to moderate DED, allowing for a regular lifestyle.

Out of the initial 105 participants contacted, only 72 attended the second appointment. The 4- and 8-year follow-up groups had nearly the complete sample, while less than half of the participants in the 6-year follow-up group were recruited, potentially limiting the results for this part of the analysis. It should be noted that age distribution among the groups was relatively similar, a crucial factor to consider, as it could influence the results if not controlled [6]. Furthermore, previous studies have indicated that ethnicity, particularly the Asian population, may impact the disease's progression [7]; the present study has only included Caucasian participants in the analysis.

Overall, this long-term follow-up study indicates that the initial diagnosis of No DED or DED remains stable over time, with potential variation observed in Pre-clinical and Predisposition to DED cases. The results reveal a strong correlation between the initial and final diagnosis. These findings have significant implications for dry eye disease management, emphasizing the need for long-term monitoring and personalized treatment strategies. Further research is required to comprehend the underlying mechanisms driving these changes and validate these findings in larger and more diverse patient populations.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Disclosure of any funding received for this work

Th

Human rights statements and informed consent

All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and regional) and with the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments. Informed consent was obtained from all patients for being included in the study.

Declaration of competing interest

The authors do not have any conflicts of interest to disclose.

References

[1] Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, et al. TFOS DEWS II diagnostic methodology report. Ocul Surf 2017;15:539–74.
[2] Wolffsohn JS, Wang MTM, Vidal-Rohr M, Menduni F, Dhallu S, Ipek T, et al. Demographic and lifestyle risk factors of dry eye disease subtypes: a cross-sectional study. Ocul Surf 2021;21:58–63.
[3] García-Queiruga J, Pena-Verdeal H, Sabucedo-Villamarín B, Giraldez MJ, García-Resúa C, Yebra-Pimentel E. A cross-sectional study of non-modifiable and modifiable risk factors of dry eye disease states. Contact Lens Anterior Eye 2023;46:101800.
[4] Lienert JP, Tarko L, Uchino M, Christen WG, Schaumberg DA. Long-term natural history of dry eye disease from the patient's perspective. Ophthalmology 2016;123:425–33.
[5] Lo C, Yang M, Rootman D. Natural history of inflammatory and non-inflammatory dry eye in thyroid eye disease. Orbit 2021;40:389–93.
[6] Wang MTM, Craig JP. Natural history of dry eye disease: perspectives from inter-ethnic comparison studies. Ocul Surf 2019;17:424–33.
[7] Stapleton F, Abad JC, Barabino S, Burnett A, Iyer G, Lekhanont K, et al. TFOS lifestyle: impact of societal challenges on the ocular surface. Ocul Surf 2023;28:165–99.

Belén Sabucedo-Villamarín
Departamento de Física Aplicada (Área de Optometría), Universidade de
mpostela,
:ia, Spain
ai.usc.es.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Hugo Pena-Verdeal*
Departamento de Física Aplicada (Área de Optometría), Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida s/n, Santiago de Compostela, Galicia, Spain
Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

Jacobo Garcia-Queiruga
Departamento de Física Aplicada (Área de Optometría), Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida s/n, Santiago de Compostela, Galicia, Spain
E-mail address: jacobogarcia.queiruga@usc.es.

Maria J. Giraldez, Carlos Garcia-Resua, Eva Yebra-Pimentel
Departamento de Física Aplicada (Área de Optometría), Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida s/n, Santiago de Compostela, Galicia, Spain
Instituto de Investigación Sanitaria (IDIS), Santiago de Compostela, Spain
E-mail addresses: mjesus.giraldez@usc.es (M.J. Giraldez), carlos.garcia.resua@usc.es (C. García-Resua), eva.yebra-pimentel@usc.es (E. Yebra-Pimentel).

* Corresponding author. Facultade de Óptica e Optometría, Campus Vida s/n, Universidad de Santiago de Compostela, 15782, Santiago de Compostela, A Coruña, Galicia, Spain.
E-mail address: hugo.pena.verdeal@usc.es (H. Pena-Verdeal).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO XI: AUTORIZACIONES PARA REPRODUCCIÓN DE IMÁGENES DE NO ELABORACIÓN PROPIA

Autorización Figura 1 – Representación de LFU integrada y su inervación de Pflugfelder et al.5 Con permiso de la editorial Elsevier. Pag17

12/11/24, 11:07 RightsLink Printable License

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Nov 12, 2024

This Agreement between Belen Sabucedo-Villamarin / Universidade de Santiago de Compostela ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5884241357179
License date	Oct 08, 2024
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	The Ocular Surface
Licensed Content Title	TFOS DEWS II pathophysiology report
Licensed Content Author	Anthony J. Bron,Cintia S. de Paiva,Sunil K. Chauhan,Stefano Bonini,Eric E. Gabison,Sandeep Jain,Erich Knop,Maria Markoulli,Yoko Ogawa,Victor Perez,Yuichi Uchino,Norihiko Yokoi,Driss Zoukhri,David A. Sullivan
Licensed Content Date	Jul 1, 2017
Licensed Content Volume	15
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	73
Start Page	438
End Page	510

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Autorización Figura 14 - Meiboscale a partir de meibografía propuesta por Pult et al.155 Con permiso de la editorial Wolkers Kluwer. Pag 40

12/11/24, 11:59 RightsLink Printable License

WOLTERS KLUWER HEALTH, INC. LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Nov 12, 2024

This Agreement between Belen Sabucedo Villamarín ("You") and Wolters Kluwer Health, Inc. ("Wolters Kluwer Health, Inc.") consists of your license details and the terms and conditions provided by Wolters Kluwer Health, Inc. and Copyright Clearance Center.

License Number	5906441208392
License date	Nov 12, 2024
Licensed Content Publisher	Wolters Kluwer Health, Inc.
Licensed Content Publication	Optometry and Vision Science
Licensed Content Title	A Review of Meibography
Licensed Content Author	Heiko Pult and Jason Nichols
Licensed Content Date	May 1, 2012
Licensed Content Volume	89
Licensed Content Issue	5
Type of Use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/College
Sponsorship	No Sponsorship

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Autorización Figura 16 – Escala BHVI de gradación de la hiperemia conjuntival. BHVI: Brian Holden Vision Institute. Con permiso de Brian Holden Vision Institute. Pag 42

Brien Holden Vision Institute Limited
Level 4 North Wing, Rupert Myers Building,
Gate 14, Barker St, University of New South Wales,
Sydney NSW 2052
www.bhvi.org | info@bhvi.org
ABN 49 081 303 282

14 October 2024

Belen Sabucedo Villamarin
Address: Campus Vida s/n, 15701, Santiago de Compostela, Galicia, Spain
Email: jacobogarcia.queiruga@usc.es
Phone: +34881813610

Dear Belen

RE: Use of Brien Holden Vision Institute ("Brien Holden") Copyright Material

Thank you for your interest in and enquiry seeking permission to use Brien Holden's copyright material BHVI Grading Scale image (reference copy **attached** to this Letter Agreement) ("**Material**").

We understand that you wish to seek permission from Brien Holden for you to use the Material for the following purposes ("**Licensed Purposes**"):

(a) reproduce an image of the BHVI Grading Scale in thesis,

Provided you. agree to the terms below, Brien Holden is willing to grant you a worldwide, non-exclusive, royalty and fee free licence to use the Material for the Licensed Purpose:

Conditions of Use

You will:

1. ensure that Brien Holden's rights in the Material are acknowledged by including on (or in reasonably close proximity to) every reproduction of the Material, the following notice, or other notice agreed with Brien Holden in writing:
   "© Brien Holden Vision Institute 2023. Reproduced with permission. Please contact the Brien Holden Vision Institute via https://bhvi.org/ for further information.";
2. only use the Material for the Licensed Purposes and for no other purposes unless you have obtained Brien Holden's prior written consent to such use for other purposes;
3. not alter, modify or amend the Material unless you have obtained Brien Holden's prior written consent in each instance; and
4. not charge any fee for any use of the Materials, and all commercial use or exploitation of the Materials is expressly prohibited.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO XII: LISTA DE IMÁGENES DE ELABORACIÓN PROPIA

- Figura 2– Capas de la película lagrimal: Capa Lipídica (A), Capa Acuosa (B) y Capa Mucínica (C). Pag 18

- Figura 3– (A) Modelo tradicional de 3 capas. (B) Modelo bicapa. Pag 18

- Figura 4– Esquema de los diferentes estados de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). Pag 23

- Figura 5– Esquema breve del "Ciclo vicioso" de la DED. DED: Enfermedad de Ojo Seco (Dry Eye Disease). ADDE: Ojo seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). Pag 25

- Figura 6– Esquema simplificado del algoritmo propuesto por el TFOS DEWS II. DED: Dry Eye Disease. DEQ-5: Dry Eye Questionnaire-5. OSDI: Ocular Surface Index. MGD: Meibomian Gland Disease. NBUT: Non-invasive Break Up time. TFBUT: Tear Fluorescein Break-Up time. ADDE: Aqueous Deficience Dry Eye. EDE: Evaporative Dry Eye. Pag 28

- Figura 7- Tinción conjuntival con el tinte vital verde de lisamina zona temporal (A) y zona Nasal (B). Pag 33

- Figura 8– Observación de una tinción corneal empleando el tinte vital de fluoresceína. Pag 34

- Figura 9– Meniscometría mediante lámpara de hendidura. Pag 35

- Figura 10 – Colocación de la tira de Schirmer. Pag 36

- Figura 11 - Colocación del hilo rojo de Fenol. Pag 37

- Figura 12– Imagen realizada mediante interferometría de la capa lipídica de un paciente. Pag 38

- Figura 13– Imagen mediante meibografía del tarso inferior (A) y del tarso superior (B). Pag 39

- Figura 15 – Imagen de la hiperemia conjuntival observada mediante lámpara de hendidura. Pag 42

- Figura 17 - Cabecera del "Cuestionario de sintomatología de malestar ocular". Pag 48

- Figura 18 - Cabecera del "Cuestionario de Evolución de sequedad ocular". Pag 48

- Figura 19 - Elementos del dispositivo TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos): Base de carga (A), dispositivo porta tarjetas de captura (B), tarjeta de captura lagrimal y su envase (C), tarjeta de verificación (D). Pag 49

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Figura 20 - Colocación del paciente y recogida de la muestra con el instrumento TearLab (TearLab Corp., San Diego, California, Estados Unidos). Pag 50

- Figura 21 – Lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) y la cámara Topcon DC-4(Topcon Corporation, Tokio, Japón) acoplada. Pag 51

- Figura 22 - Visualización del menisco lagrimal central con la iluminación lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón). Pag 52

- Figura 23 - Proceso de medida del TMH-SL empleando el software ImageJ. TMH-SL: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Slit Lamp). Pag 53

- Figura 24 - Dispositivo Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido) y lámpara de hendidura Topcon SL-D4 (Topcon Corporation, Tokio, Japón) con este dispositivo acoplado. Pag 54

- Figura 25 - Visualización del TMH central con la iluminación del Tearscope (Keeler, Windsor, Reino Unido). TMH: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height). Pag 55

- Figura 26 - Proceso de medida del TMH-Tc empleando el software ImageJ. TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal (Tear Meniscus Height with Tearscope). Pag 56

- Figura 27 - Esquema básico de los patrones lipídicos interferenciales de Guillon (LLP-G): A: LLP Marmóreo abierto; B: LLP Marmóreo Cerrado; C: LLP Fluido; D: LLP Amorfo; E: LLP Coloreado. LLP: Patrón Lipídico Interferencial (Lipid Layer Pattern). Pag 57

- Figura 28 - Esquema de características del color de los patrones lipídicos (LLP-C): A: LLP Gris; B: LLP Blanco; C: LLP Amarillo; D: LLP Marrón o superior. LLP: Lipid Layer Pattern. Pag 58

- Figura 29 - OCULUS Keratograph 5M (Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Alemania).Pag 59

- Figura 30 - Observación de las Glándulas de Meibomio tras eversión del párpado inferior mediante el Keratograph 5M. Pag 60

- Figura 31- Medida de MGLA mediante el software ImageJ. A (área total del GM). B (Área de GM) MGLA: Área de Perdida de Glándulas de Meibomio (Meibomian Gland Loss Area). MG: Glándulas de Meibomio. Pag 61

- Figura 32 – Tiras de fluoresceína y solución salinas empleadas respectivamente. Pag 62

- Figura 33 – Software VirtualDub: selección del fotograma en el cual se produce el TFBUT. TFBUT: Tiempo de Ruptura Lagrimal con Fluoresceína (Fluorescein Tear Film Break-up Time).Pag 63

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Figura 34 - Secuencia de fotogramas proporcionados por el software VirtualDub para el cálculo del MBI. MBI: Intervalo Máximo entre Parpadeos (Maximum Blink Interval). Pag 64

- Figura 35 - – Esquema Oxford para la clasificación de la tinción corneal. Grado 0: Tinción ausente; Grado 1: Tinción mínima; Grado 2: Tinción media; Grado 3: Tinción moderada; Grado 4: Tinción marcada, Grado 5: Tinción severa. Pag 65

- Figura 36 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE frente a EDE). TMH-Tc: Altura de Menisco Lagrimal con Tearscope (Tear Meniscus Height with Tearscope). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic. Pag 73

- Figura 37 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del TMH-Tc (ADDE Leve-Moderado frente a ADDE Moderado-Severo). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficient Dry Eye). ROC: Receiver Operating Characteristic. Pag 75

- Figura 38 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a EDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic). Pag 82

- Figura 39 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (ADDE frente a MDE). ADDE: Ojo Seco por Deficiencia Acuosa (Aqueous Deficience Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Guillon (Lipid Layer Pattern following the Guillon Scheme). LLP-C: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic). Pag 83

- Figura 40 - Curva ROC que muestra la relación entre la sensibilidad y la especificidad del LLP-G y LLP-C (EDE frente a MDE). EDE: Ojo Seco Evaporativo (Evaporative Dry Eye). MDE: Ojo Seco Mixto (Mixed Dry Eye). LLP-G: Patrón Lipídico Interferencial siguiendo el esquema de Color (Lipid Layer Pattern following the Colour Scheme). ROC: Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic). Pag 85

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

La enfermedad del ojo seco se ha convertido en un problema de salud pública global, con una prevalencia que alcanza
hasta el 50%. Esta elevada frecuencia representa un desafío económico tanto para los pacientes como para los sistemas
de salud. Por ello, investigadores y clínicos enfrentan el reto de optimizar su diagnóstico y tratamiento, anticipándose a las
complicaciones y mejorando el pronóstico de quienes la padecen. Avanzar en criterios diagnósticos y comprender su
curso natural es clave para seleccionar intervenciones terapéuticas adecuadas.
El objetivo de esta tesis doctoral ha sido identificar criterios que permitan diferenciar los subgrupos y mejorar la
clasificación de los pacientes, junto con el estudio del curso natural de la enfermedad.