

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

IOBA (Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada)

Grupo de Investigación en Superficie Ocular

# TESIS DOCTORAL

ALTERACIÓN DE LA SUPERFICIE OCULAR TRAS LA  
EXPOSICIÓN A UN AMBIENTE ADVERSO CREADO EN UNA  
CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO (CAC)

María Jesús González García

Directora: Prof. Margarita Calonge Cano

Valladolid, mayo de 2008



Never stop dreaming; what seemed impossible yesterday  
can become a reality tomorrow

Charles L. Schepens



A mi familia



## FINANCIACIÓN

Trabajo de investigación realizado con el apoyo económico de las siguientes instituciones:

- Artículo 83 de la L.O.U. firmado con la empresa Allergan Inc. "Ocular Surface Disease Program. Allergan IOBA Agreement". Investigadora principal: Margarita Calonge Cano. 06/2003-06/2008.
- Junta de Castilla y León, proyectos de investigación en Biomedicina: SAN191/VA14/06. Proyecto: Alteración de la superficie ocular por condiciones adversas ambientales. Investigadora principal Margarita Calonge Cano. 06/10/2006-05/10/2007.
- Ciba Vision España ha colaborado con la cesión de las lentes de contacto necesarias para la realización el estudio.

Este trabajo de investigación ha originado la solicitud de la siguiente financiación:

- Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI). Proyecto de innovación tecnológica. Proyecto: Desarrollo de una cámara de ambiente controlado para la estandarización de parámetros ambientales y estudio de su impacto en la patología ocular. IDI-20060676. Financiación concedida a la empresa Visión I+D. Estado de la solicitud: concedida
- Donación de Allergan Inc., EEUU a Visión I+D para la construcción de la cámara de ambiente controlado en el IOBA y realización de futuros estudios en ella.
- Artículo 83 de la L.O.U. firmado con la empresa Allergan Inc. "Environmental Chamber Project: standardization of diagnostic tests under Controlled Environmental Conditions". Investigadora principal Margarita Calonge Cano. 01/03/2008-31/12/2008.
- Junta de Castilla y León. Ayuda para la financiación de las actividades de los Grupos de Investigación de Excelencia de Castilla y León. Proyecto: Estandarización de los parámetros ambientales y exploraciones oftalmológicas en una cámara de ambiente controlado (CAC) para la realización de estudios clínicos en patología de la superficie ocular bajo condiciones normales y extremas. Estado de la solicitud: pendiente de resolución.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. Ayudas de la acción estratégica en Salud, en el marco del Plan Nacional de I+D+I 2008-2011. Proyecto: Estandarización de los tests diagnósticos de inflamación crónica de la superficie ocular para su validación como criterios de evaluación para ensayos clínicos terapéuticos. Estado de la solicitud: pendiente de resolución.





## **DIVULGACIÓN CIENTÍFICA**

Este trabajo ha dado lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones:

### **Artículos publicados en revistas con índice de impacto**

- González-García MJ, González-Sáiz A, de la Fuente B, Morilla-Grasa A, Mayo-Iscar A, San-José J, Feijó J, Stern ME, Calonge M. Exposure to a controlled adverse environment impairs the ocular surface of minimally symptomatic dry eye subjects. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007;48:4026-4032. USA. Índice de impacto (año 2007)=3,528. CLAVE: A. Anexo I.

### **Presentaciones a congresos y resúmenes publicados**

- 05/2005: Gonzalez MJ, Gonzalez-Saiz A, Herreras JM, Mayo A, de la Fuente B, San Jose J, Feijo J, Stern M, Calonge M. Hydrogel contact lens (HCL) wear in controlled adverse environment (CAE) condition. IOVS 2005;46:ARVO E-abstract 2066. USA. Poster. Anexo II.
- 02/2006: Calonge M. Panelista asesor. Contribución: Progress on the in vitro model of chronic ocular inflammation. Development of an adverse environment chamber for human studies. Allergy & Inflammation Scientific Working Group (AISWG) Meeting. Allergan, New York City, NY, USA.
- 03/2006: González García MJ, González Sáiz A, De la Fuente B, Feijó J, Calonge M. Influencia de la humedad relativa en el uso de lentes de contacto de hidrogel convencional e hidrogel de silicona. 19 Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica, Colegio Nacional de Ópticos-Optometristas. Madrid. Presentación oral.
- 03/2006: González García MJ. Investigación en ojo seco y lentes de contacto, colaboración en el Curso de Inmunología Ocular, dentro del Programa de Doctorado Inter-universitario en Ciencias de la Visión 2005/2006. IOBA, Universidad de Valladolid, Valladolid.

- 05/2006: Gonzalez-Garcia MJ, Gonzalez-Saiz A, Herreras JM, de la Fuente B, San Jose J, Feijo J, Mayo a, Stern ME, Calonge M. Environmental chamber as a diagnostic tool for marginal dry eye sufferers. IOVS 2006;47:ARVO E-abstract 241. USA. Poster. Anexo II.
- 03/2007: González García MJ. Modelo de ojo seco en condiciones ambientales adversas: "Cámara de ambiente controlado", colaboración en el Curso de Investigación Aplicada en Ciencias de la Visión. Programa Oficial de Master en Investigación en Ciencias de la Visión 2006/2007. IOBA, Universidad de Valladolid, Valladolid.
- 06/2007: Calonge M. Panelista-asesor. Contribución: Effect of a Controlled Adverse Environment (CAE) on the Ocular Surface: A Model for Human Studies. The Inflammation and Ocular Surface Focus Group. Allergan. Paris, Francia.
- 03/2008: González García MJ. Modelo de ojo seco en condiciones ambientales adversas: "Cámara de ambiente controlado", colaboración en el Curso de Inmunología Ocular. Programa Oficial de Master en Investigación en Ciencias de la Visión 2007/2008. IOBA, Universidad de Valladolid, Valladolid.
- 03/2008: González García MJ. Investigación en ojo seco y lentes de contacto, colaboración en el Curso de Investigación aplicada en Ciencias de la Visión. Programa Oficial de Master en Investigación en Ciencias de la Visión 2007/2008. IOBA, Universidad de Valladolid, Valladolid.

## *ÍNDICE*

---



# **ÍNDICE**

I. Agradecimientos.....	1
II. Abreviaturas .....	7
III. Justificación, hipótesis y objetivos .....	11
III.1. Justificación .....	13
III.2. Hipótesis .....	15
III.3. Objetivos .....	15
IV. Introducción.....	17
IV.1. Síndrome de ojo seco.....	19
IV.1.1. Definición.....	19
IV.1.2. Clasificación.....	20
IV.1.3. Patogénesis.....	21
IV.2. Influencia del medio ambiente en la superficie ocular .....	23
IV.2.1. Síndrome del edificio enfermo.....	23
IV.2.2. Cabinas de avión.....	25
IV.3. Control de las variables ambientales .....	27
IV.3.1. Evaporímetro.....	27
IV.3.2. Cámaras de ambiente controlado (CAC).....	29
A. Modelos de provocación alérgica en CAC .....	29
B. Modelos de exposición a contaminantes ambientales en CAC .....	31
C. Modelos de control de variables ambientales en CAC.....	33
D. Modelos de control de variables ambientales en CAC en usuarios de lentes de contacto (LC).....	38
E. Modelos de control de variables ambientales en animales .....	39
V. Material y métodos .....	45
V.1. Diseño del estudio .....	47
V.2. Grupo muestral.....	48
V.3. Condiciones ambientales del estudio .....	49
V.4. Pruebas diagnósticas .....	52
V.5. Diseño experimental.....	58
V.5.1. Visita 0 (inclusión).....	59
V.5.2. Condición experimental ambiente controlado adverso (ACA).....	60
V.5.3. Condición control ambiente interior normal (AIN).....	65



V.6. Tratamiento estadístico .....	73
VI. Resultados .....	75
VI.1. Grupo muestral y visita de inclusión .....	77
VI.2. Cambios inducidos por la exposición ambiental .....	81
VI.3. Efecto del uso de LC en condiciones de ACA y de AIN.....	82
VI.4. Comparación entre las LC de hidrogel de silicona (LCHSi) y las LC de hidrogel convencional (LCHC) .....	83
VI.5. Seguridad de las condiciones ambientales (ACA y AIN) .....	84
VII. Discusión.....	129
VII.1. De la metodología .....	131
VII.1.1. Grupo muestral.....	131
VII.1.2. Condiciones ambientales del estudio.....	132
VII.2. De los resultados.....	133
VII.3. Implicaciones clínicas y posibles vías de continuación del trabajo.....	140
VIII. Conclusiones.....	143
IX. Bibliografía .....	147
X. Anexo I. Artículos publicados en revistas con alto índice de impacto.....	167
XI. Anexo II. Presentaciones a congresos y resúmenes publicados.....	169





## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1: Esquema del modelo de irritación ocular según Wolkoff y cols. ....	25
Figura 2: Aspecto interior de la CAC utilizada en este estudio .....	50
Figura 3: Esgala gráfica de hiperemia bulbar.....	54
Figura 4: Escala gráfica de hiperemia limbar .....	54
Figura 5: Escala gráfica de tinción corneal con fluoresceína .....	55
Figura 6: Escala gráfica de tinción conjuntival con fluoresceína .....	55
Figura 7: Escala gráfica de tinción conjuntival con rosa de Bengala .....	56
Figura 8: Variación de la comodidad en el ACA.....	87
Figura 9: Comodidad en ACA .....	89
Figura 10: Comodidad en AIN.....	91
Figura 11: Sintomatología de ojo seco en ACA .....	93
Figura 12: Sintomatología de ojo seco en AIN.....	95
Figura 13: NIBUT en ACA.....	97
Figura 14: NIBUT en AIN .....	99
Figura 15: Hiperemia bulbar en ACA .....	101
Figura 16: Hiperemia bulbar en AIN.....	103
Figura 17: Hiperemia limbar en ACA .....	105
Figura 18: Hiperemia limbar en AIN.....	107
Figura 19: Test rojo de fenol en ACA.....	109
Figura 20: Test rojo de fenol en AIN .....	111
Figura 21: Tinción corneal con fluoresceína en ACA .....	113
Figura 22: Tinción corneal con fluoresceína en AIN .....	115
Figura 23: Tinción conjuntival con fluoresceína en ACA.....	117
Figura 24: Tinción conjuntival con fluoresceína en AIN .....	119
Figura 25: Concentración de lisozima en lágrima en ACA.....	121
Figura 26: Concentración de lisozima en lágrima en AIN .....	123
Figura 27: Test de Schirmer en ACA .....	125
Figura 28: Test de Schirmer en AIN.....	127



## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1: Características de las CAC descritas en publicaciones científicas. ....	43
Tabla 2: Cuestionario de sintomatología de ojo seco (SIDEK) .....	53
Tabla 3: Descripción de las visitas y protocolo de los tests realizados en cada evaluación .....	71
Tabla 4: Resultados de los tests realizados durante la visita de inclusión (V0) para cada paciente .....	79
Tabla 5: Resultados de los diferentes parámetros evaluados en cada visita.....	85



## ***I. AGRADECIMIENTOS***

---



Hace algunos años un buen amigo, me dijo que, si luchas por algo, todo lo que te rodea termina “reorganizándose” para que lo consigas. No tengo claro que esto ocurra siempre ni a todas las personas, sin embargo yo me considero una persona afortunada. Tampoco se muy bien dónde está el límite, si es el azar el que hace que las cosas cambien en el momento adecuado hacia la dirección adecuada, o son las propias personas quienes, con su esfuerzo, mueven y provocan las situaciones. Probablemente sea la suma de las dos fuerzas motoras, unas veces tirará más el azar, y otras, la voluntad.

Este pensamiento ha iluminado los rincones del largo camino que me ha traído hasta aquí, momento en el que el azar, en forma de cambios profundos en la ley de educación, y la voluntad (la mía y la de muchas otras personas que, afortunadamente, me han rodeado), han hecho que me encontrara en el sitio y en el momento adecuados.

Así, la palabra “Tesis Doctoral”, que cuando me incorporé a la Universidad parecía tan lejana (y tan necesaria a la vez), hace escasamente dos años apareció en mi horizonte, primero de forma tímida, como si se tratara de algo que hay que ocultar, y desde algo menos de un año ha tomado una presencia casi aplastante, de forma que me he permitido el lujo de emprender una carrera alocada hacia ella.

Dicho esto, no querría dejar pasar entonces la oportunidad que se me brinda aquí para, agradecer a la gente que, con su voluntad y empeño, ha colaborado en esta “reorganización”. Espero no olvidarme de nombrar a nadie, si lo hago, mis más sinceras disculpas.

A la Prof. Margarita Calonge, mi directora de Tesis, principalmente por haber creído en mí y haberme apoyado de manera totalmente incondicional desde el principio, y como no, por sus horas de dedicación, su esfuerzo y su cariño.

Al Prof. José Carlos Pastor, Director del IOBA, por su clarividencia, su constancia y su apoyo, por defender sin límites aquello en lo que cree y por que fue quien me dio la oportunidad de estar

donde estoy. Su capacidad de trabajo y organización me han servido como referente durante todos estos años que llevo trabajando a su lado.

Al Dr. Michael Stern, que junto con los Profs. J. Carlos Pastor y Margarita Calonge han constituido el germen de la idea, por haber puesto todo su empeño e ilusión en este proyecto y por seguir apoyando el futuro de la cámara de ambiente controlado.

A los directivos de Visión I+D, empresa “spin off” de la Universidad de Valladolid, por aceptar el reto de la construcción en una cámara ambiental en el seno del nuevo edificio del IOBA, lo que permitirá el futuro de este trabajo.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Acondicionamiento (Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Valladolid): Beatriz de la Fuente, Clodoaldo Ortega, Julio San José y el resto de personas que han contribuido a poner a punto la cámara de ambiente controlado donde se ha realizado este trabajo. Especialmente al Prof. Jesús Feijó, por su generosidad, por sus ideas y por su esfuerzo para que este trabajo saliera adelante. Y porque sigue trabajando en esta idea.

Al equipo de gente que ha trabajado en este proyecto: a Arancha Sáiz por haberme ayudado a tomar las medidas, al Dr. Agustín Mayo por su inestimable ayuda con la estadística, al Dr. Antonio Morilla por las horas que pasó analizando las muestras de lágrima y al Dr. Guillermo Calonge, por sus consejos en el ámbito de las condiciones atmosféricas que deberíamos trabajar. Sin vosotros aún estaría peleándome con medidas, datos, resultados...

Al Grupo de Superficie Ocular, por haberme hecho sentir parte integrante e importante de un grupo de investigación, y a todo el personal del IOBA que me ha ayudado en este camino hacia la tesis doctoral, especialmente a la Dra. Yolanda Diebold, M<sup>a</sup> Paz García, Ana Rodríguez, Lurdes Perez y Berta Velasco.

Me gustaría mencionar también a la Sección de Óptica del Departamento de Física Teórica, Atómica y Óptica de la Universidad de Valladolid, y al Colegio de Ópticos-Optometristas de



Castilla y León. Esta Tesis Doctoral es un hito importante en el camino que he recorrido junto a muchas personas de estas dos instituciones.

Y a la gente de la Escuela de Óptica y Optometría de la Universidad Politécnica de Cataluña, en especial a Carmen Serés y Miquel Rayó, por haber contribuido a que las cosas de “reorganizaran” de una forma más ágil y rápida, por no decir nunca que no, si no “lo intentaré”.

No me gustaría dejar pasar la oportunidad de recordar mi estancia en el “Centre for Contact Lens Research Unit” (Sydney, Australia) durante el verano de 2001. Aunque no con una aportación directa en este trabajo, sí fue una estancia que cambió mi perspectiva sobre la investigación en lentes de contacto y de la que saqué una formación básica que me ha ayudado en su realización.

Por ello, les agradezco a Miguel Refojo, Brian Holden y Debbie Sweeney la oportunidad que me brindaron al haber hecho posible mi estancia y a René du Toit, Eric Papas y Fiona Stapleton por haber sido mis tutores de una u otra forma en el centro.

Me gustaría reconocer sobre el papel escrito también el apoyo incondicional que he tenido por parte de mi familia, de mis padres y mis hermanas, que aunque estoy convencida de que a veces han pensado que había perdido un poco el norte, nunca han dejado de apoyar las decisiones que tomaba. Y a Franky, que aunque ha llegado más tarde, por la cercanía lo ha vivido todo con mucha más intensidad, con lo que creo que se le pueden convalidar varios años...

A Gino Bilotto, gracias por compartir conmigo su “teoría de la reorganización”.

Por último, agradecer a toda la gente (amigos, conocidos, compañeros, familia) que ha entendido y compartido la alegría que este paso supone para mí.

A todos, gracias.

María Jesús González García



## ***II. ABREVIATURAS***

---



ACA: ambiente controlado adverso

AIN: ambiente interior normal

CAC: cámara de ambiente controlado

SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco ("Single Item Score Dry Eye Questionnaire")

EVV: escala de valoración visual

HR: humedad relativa

LC: lente de contacto

LCH: lente de contacto hidrofílica

LCHC: lente de contacto hidrofílica convencional

LCHSi: lente de contacto de hidrogel de silicona

NIBUT: tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (Non Invasive Break-Up Time)

PL: película lagrimal

SO: superficie ocular

SOS: síndrome de ojo seco

T<sup>a</sup>: temperatura

T-BUT: tiempo de ruptura lagrimal (Tear Break-Up Time)

UFL: unidad funcional lagrimal



### *III. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS*





### **III.1. JUSTIFICACIÓN**

Las condiciones ambientales adversas, tales como calor excesivo, viento o baja humedad relativa (HR) ambiental, provocan síntomas y signos de síndrome de ojo seco (SOS).<sup>1, 2</sup> Estos ambientes existen en numerosos lugares del planeta, especialmente en las regiones con climas desérticos o semi-desérticos. Además, millones de personas están expuestas a estas condiciones en ambientes controlados de forma artificial, como ocurre en las habitaciones con aire acondicionado o calefacción, vehículos y cabinas de aviones. Estas condiciones, si se producen durante un periodo de tiempo prolongado, pueden afectar a los ocupantes e interfieren con las actividades de la vida diaria y el trabajo. De hecho, afectan a muchos edificios modernos dando lugar al término “síndrome del edificio enfermo” (“sick building syndrome”).<sup>3, 4</sup> Además, el uso de pantallas de ordenador y la lectura, pueden empeorar estas situaciones.<sup>5, 6</sup> Para entender la forma en la que el ambiente afecta a la superficie ocular (SO) y provoca signos y síntomas de SOS, se hace necesario controlar las condiciones de exposición, como la HR, la temperatura ( $T^a$ ), el flujo de aire, la presión atmosférica y la presencia de contaminantes ambientales.

En el mundo, existen aproximadamente 100 millones de usuarios de lentes de contacto (LC);<sup>7</sup> entre el 50 y el 80% de ellos tienen síntomas de sequedad o incomodidad durante el uso<sup>8, 9</sup> y, además, estos síntomas empeoran con las horas de porte.<sup>10</sup> Alguno de los factores que se barajan como implicados en esta disminución de la tolerancia al uso de LC es el aumento de la evaporación de la película lagrimal (PL) cuando se inserta una LC en el ojo<sup>11</sup> y la deshidratación progresiva del material de las LC hidrofílicas (LCH) durante su uso.<sup>12, 13</sup> Esta deshidratación se acelera cuando las condiciones ambientales de HR,  $T^a$  y exposición al aire son desfavorables, como ocurre en el caso de situaciones con baja HR,  $T^a$  elevada o corrientes de aire (estancias cerradas, con sistemas de aire acondicionado...<sup>14</sup>

En los últimos años, han aparecido en el mercado materiales para la fabricación de LCH que mejoran su tolerancia a lo largo del día, como el Omafilcon A, el Hioxifilcon A<sup>15-17</sup> o los hidrogeles

de silicona.<sup>18, 19</sup> Sin embargo, los estudios realizados con estos materiales muestran resultados contradictorios.<sup>20, 21</sup> Esta inconsistencia en los resultados podría ser debida en parte a la falta de estandarización de las condiciones ambientales en las que se evalúan las LC, aunque este tema no se ha investigado aún.

Con el propósito de estandarizar las condiciones ambientales en los estudios, diversos grupos de trabajo han diseñado cámaras de ambiente controlado (CAC) para, de esta forma, poder evaluar las respuestas de los individuos a diferentes estímulos de una forma estándar. Una CAC es una habitación en la que se aísla al individuo del exterior, sometiéndolo a condiciones ambientales predeterminadas tales como la Tª, HR, presión atmosférica, contaminación ambiental, actividad visual, flujo de aire... pudiendo estudiar sus respuestas a la exposición al ambiente seleccionado. Un ejemplo de esto, es la evaluación de la eficacia de fármacos antialérgicos en sujetos expuestos a una carga de polen controlada.<sup>22-24</sup> También se han utilizado para evaluar la influencia en la SO de factores irritantes como pueden ser el humo del tabaco,<sup>25</sup> el polvo,<sup>26</sup> o la administración de fármacos a nivel tópico conjuntival.<sup>27</sup>

También se han utilizado diversos ambientes controlados creados en CAC para desarrollar modelos animales de SOS.<sup>28, 29</sup> En humanos, se han usado para estudiar los efectos de las terapias para SOS,<sup>30</sup> para evaluar el efecto sobre la SO de las LC,<sup>31, 32</sup> y su uso ha sido sugerido para mejorar el diseño de ensayos clínicos.<sup>1</sup>

El propósito de este estudio es el de evaluar los cambios que se producen en la SO de individuos jóvenes y sanos, usuarios de LC, tras su exposición a un ambiente controlado adverso (ACA), creado mediante una CAC.

### **III.2. HIPÓTESIS**

La exposición a un ambiente adverso creado en una cámara ambiental, afecta negativamente al estado de salud de la superficie ocular de individuos jóvenes y sanos portadores de lentes de contacto. Así mismo, dicha exposición puede establecer diferencias en la tolerancia a diversos tipos de lentes de contacto.

### **III.3. OBJETIVOS**

1. Determinar si la exposición durante 2 horas a un ACA definido como  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  de  $T^a$  y HR de  $20\% \pm 5\%$ , creado en una CAC afecta negativamente a la SO de sujetos jóvenes portadores de LC, comparándolo con la exposición a un ambiente interior normal (AIN), definido como  $24.2 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$  de  $T^a$  y HR de  $34.8 \pm 2.9\%$ .
2. Evaluar el posible impacto negativo del uso de LC en el ACA y analizar si existe alguna diferencia en la tolerancia entre las LC de hidrogel de Silicona (LCHSi) y las LC de hidrogel convencional (LCHC).
3. Determinar si las alteraciones inducidas por el ACA en la SO son reversibles después de cesar la exposición.



#### ***IV. INTRODUCCIÓN***

---



## **IV.1. SÍNDROME DE OJO SECO**

El SOS es un trastorno inflamatorio muy prevalente que afecta a millones de personas en todo el mundo, siendo uno de los principales motivos de consulta a un oftalmólogo.<sup>33</sup> Se ha visto que el 64% de los pacientes que acuden a una consulta de optometría en EE.UU. tienen síntomas de incomodidad ocular,<sup>34</sup> y en un estudio realizado en Canadá encontraron que un 28,7% de los sujetos que asistían a las consultas de optometría presentaban síntomas de SOS.<sup>35</sup>

Uno de los mayores estudios epidemiológicos realizados, encontró una prevalencia de SOS en personas mayores de 55 años de 6,06% para las mujeres y de 2,79% para los hombres.<sup>36</sup> Sin embargo, las diferencias en las definiciones, los criterios de diagnóstico o de la población de estudio presentan una gran variación en la prevalencia y la incidencia,<sup>37</sup> oscilando entre un 5%<sup>38</sup> y un 35%.<sup>39</sup>

### **IV.1.1. Definición**

La definición de SOS aceptada hasta hace pocos meses, fue la que se dio en 1995 en el National Eye Institute/ Industry workshop on clinical trials in dry eyes, en la que definía SOS como un trastorno de la PL debido a una deficiencia o excesiva evaporación de ésta, que origina daño en la SO interpalpebral y está asociada a síntomas de incomodidad ocular.<sup>40</sup>

Sin embargo, esta definición ha sido recientemente modificada, incluyendo los nuevos descubrimientos que se han ido aportando desde entonces, tanto en la patogenia como en sus efectos (síntomas y signos). En el informe del International Dry Eye Workshop (DEWS) de 2007, el SOS aparece definido como una enfermedad multifactorial de la PL y de la SO que causa síntomas de incomodidad, perturbación visual e inestabilidad lagrimal, con un daño potencial a la SO. Se acompaña de un aumento de la osmolaridad de la PL e inflamación de la SO.<sup>41</sup>

### **IV.1.2. Clasificación**

La clasificación más aceptada actualmente es la publicada en el informe del DEWS,<sup>41</sup> que es una actualización de la clasificación del National Eye Institute/Industry Workshop de 1995.<sup>40</sup> Esta clasificación mantiene la diferenciación entre SOS hiposecretor y evaporativo que ha estado vigente durante mucho tiempo en la literatura especializada.

El SOS hiposecretor es debido a un fallo en la secreción de la PL. Esto origina hiperosmolaridad en la lágrima y un daño en las células epiteliales de la superficie, estimulando una cascada de eventos inflamatorios. Éste se divide a su vez en dos subcategorías: asociado a Síndrome de Sjögren y no asociado a Síndrome de Sjögren. El síndrome de Sjögren es una enfermedad de origen autoinmune en la que las glándulas exocrinas se ven afectadas, produciendo sequedad de las mucosas. Existen varias formas de SOS hiposecretor no Sjögren, como enfermedades de la glándula lagrimal principal (falta congénita, sarcoidosis...), obstrucción de las zonas de drenaje de las glándulas lagrimales (conjuntivitis cicatrizantes, quemaduras...), pérdida del reflejo de lagrimeo (disminución de la sensibilidad corneal por el uso de LC o por una queratitis neurotrófica...), o el uso de ciertos fármacos sistémicos que disminuyen la secreción de la PL.

En el SOS evaporativo, la función lagrimal suele ser normal (el volumen, la secreción y la eliminación de lágrima son normales), pero existe una alteración lagrimal originada por alguna enfermedad que provoca una mayor evaporación de la lágrima. A su vez, esta categoría tiene diferentes causas u orígenes, que pueden ser intrínsecas (disfunción de las glándulas de Meibomio, desórdenes de la dinámica palpebral, baja tasa de parpadeo o la ingesta de ciertos medicamentos) o extrínsecas (deficiencia de vitamina A, conservantes de colirios tópicos, uso de LC, enfermedades de la SO como alergias o la exposición a ambientes adversos).

Cada una de estas alteraciones puede provocar un SOS de forma aislada o concurrir varias a la vez. Por ejemplo, es muy frecuente que pacientes con síndrome de Sjögren (SOS con deficiencia lagrimal) presenten concomitantemente, y por lo general de forma intensa, un



componente de alteración de las glándulas de Meibomio (tipo evaporativo); por el contrario, pacientes con blefaritis crónica (tipo evaporativo) pueden desarrollar un componente de deficiencia lagrimal.<sup>42-44</sup> Estas asociaciones y la superposición son de suma importancia para los fines terapéuticos, porque a menos que todos los componentes sean diagnosticados y tratados adecuadamente, no es probable que la condición del paciente mejore.

### **IV.1.3. Patogénesis**

El SOS es reconocido como una alteración de la unidad funcional lagrimal (UFL), un sistema integrado que comprende las glándulas lagrimales (glándula lagrimal principal y accesorias y las glándulas de Meibomio), la SO (cornea, conjuntiva y limbo) y la innervación senso-motora que conecta estos tejidos con los centros nerviosos.<sup>45, 46</sup> La UFL controla la mayoría de los componentes de la PL de una forma regulada y responde a factores ambientales, endocrinos y nerviosos.<sup>41</sup> La enfermedad o el daño en cualquiera de los componentes de la UFL puede desestabilizar la PL y llevar a una enfermedad que se expresa como SOS.

El hecho que ha cambiado el concepto de SOS ha sido la hipótesis, ya probada, de que el SOS es una condición inflamatoria inmunológica.<sup>45</sup> Este hecho, que ya estaba demostrado en la glándula lagrimal de pacientes con Síndrome de Sjögren;<sup>47</sup> se demostró también hace unos años, no sólo en la glándula lagrimal, sino en el tejido conjuntival de perros que sufrían espontáneamente SOS (sin afectación sistémica).<sup>48</sup> Pero además, estas mismas conclusiones han sido demostradas en seres humanos, tanto en pacientes con SOS de tipo Sjögren como no Sjögren.<sup>49-52</sup> Paralelamente, otras investigaciones han demostrado la importancia de los andrógenos en el mantenimiento del ambiente antiinflamatorio normal tanto en la SO como en las glándulas lagrimales.<sup>53, 54</sup>

Con la ayuda de las conclusiones anteriormente citadas, se creó la denominada “teoría unificada”,<sup>55</sup> que explica que el SOS se produciría cuando disminuyen los niveles de andrógenos

sistémicos y/o locales (normalmente como parte del envejecimiento, y especialmente en la menopausia) por debajo del umbral crítico necesario para el mantenimiento de la UFL y, en consecuencia, se genera un entorno pro-inflamatorio (primer “estímulo”). Esto facilitaría que la superficie ocular (de hecho, toda la UFL) pueda llegar fácilmente a irritarse debido a un segundo “estímulo” (factores ambientales adversos, uso de LC, uso crónico de medicamentos tópicos, cualquier enfermedad inflamatoria de la SO, traumatismos, etc.), originando la inflamación y, por tanto, favoreciendo la secreción de citoquinas inflamatorias,<sup>56, 57</sup> que interfieren en las conexiones neuronales normales conduciendo a la pérdida del reflejo lagrimal. Esta disfunción neuro-humoral permitiría la presentación de antígenos en la glándula lagrimal y en la SO, provocando la infiltración linfocítica y el consiguiente aumento de la apoptosis de las células epiteliales secretoras,<sup>48, 58</sup> conduciendo así posteriormente a la disfunción de la PL y a la sequedad crónica. Además de la disminución de los andrógenos, otros factores que pueden provocar una disfunción de la UFL<sup>45</sup> pueden ser enfermedades de la SO que alteran la innervación de la misma o tienen una duración lo suficientemente larga como para destruir las glándulas lagrimales (especialmente las conjuntivitis cicatrizantes), cirugías de la superficie ocular (p.ej. LASIK), enfermedades inflamatorias sistémicas con afectación de la SO, o cualquier condición que pueda alterar el arco neuronal que controla la producción, distribución y eliminación lagrimal.<sup>59-61</sup>

## **IV.2. INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE EN LA SUPERFICIE**

### **OCULAR**

Existen diferentes condiciones ambientales más o menos habituales en la vida diaria que han sido objeto de estudio, tales como la presencia de polen en el caso de individuos alérgicos, el efecto irritativo del humo del tabaco, o la baja HR en algunos ambientes.

En este sentido, es necesario analizar dos situaciones ampliamente estudiadas, tanto por la cantidad de personas que se ven expuestas a ellas de forma habitual, como por las implicaciones que sus efectos pueden tener en el rendimiento laboral: el síndrome del edificio enfermo y las cabinas de los aviones durante los vuelos, especialmente en los de larga duración.

#### **IV.2.1. Síndrome del edificio enfermo**

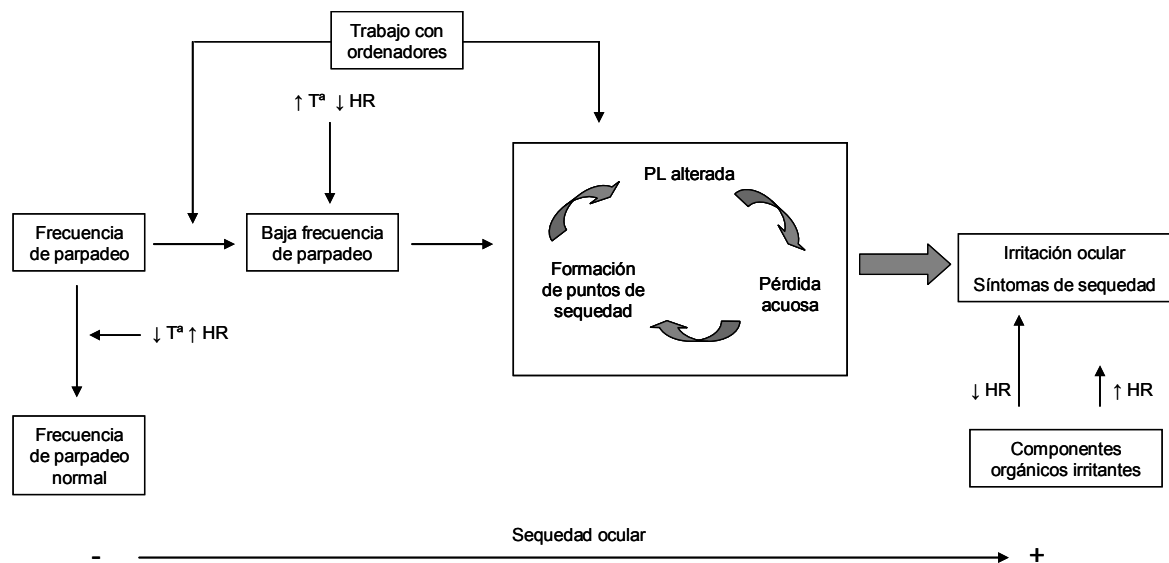
La Organización Mundial de la Salud define el síndrome del edificio enfermo como un exceso de irritación de la piel y mucosas, además de otra serie de síntomas que incluyen cefalea, fatiga y falta de concentración, reportados por los trabajadores en edificios de oficinas modernos.<sup>62</sup> Según los estudios, entre el 50 y 80% de los trabajadores padecen algún tipo de síntoma relacionado con este síndrome<sup>63, 64</sup> y alrededor de un 30% refiere molestias oculares.<sup>3, 6, 65, 66</sup> De los síntomas que comprenden el síndrome del edificio enfermo, el síntoma “ojos cansados” ha sido reportado como la causa más común de interrupción en el trabajo de oficina, seguido de fatiga mental y dolor de cabeza.<sup>67</sup>

Algunos de los factores de riesgo para padecer este síndrome dependen del propio edificio (aire acondicionado, baja tasa de ventilación, contaminantes ambientales) y otros dependen del ambiente de trabajo (uso de ordenadores, iluminación, presencia de alfombras, falta de satisfacción laboral o estrés).<sup>68-71</sup> Factores personales como el sexo femenino o la historia de atopia también han sido asociados frecuentemente con el síndrome del edificio enfermo.<sup>72-74</sup>

La HR ambiental parece ser un factor importante en la aparición de este síndrome, ya que se ha visto que aparecen síntomas de sequedad de nariz, garganta, ojos o piel asociados a condiciones de baja HR (por ejemplo 20% de HR a 24°C);<sup>75</sup> además, algunos de estos síntomas disminuyen significativamente con el aumento de la HR en los edificios (irritación o picor de piel, ojos y garganta y reacciones alérgicas).<sup>76, 77</sup>

Con respecto a los estudios realizados sobre la superficie ocular, Wyon<sup>78</sup> encontró una asociación entre los síntomas de incomodidad ocular y una reducción de la estabilidad de la PL en trabajadores con síntomas de síndrome del edificio enfermo y Franck y cols.<sup>65, 66, 79</sup> encontraron la misma relación, además de un aumento de la tinción de la conjuntiva con verde de lisamina.

Wolkoff y cols.<sup>80, 81</sup> propusieron un modelo integrado para explicar la etiología de la irritación ocular que sufren los trabajadores en el síndrome del edificio enfermo. En su modelo, la desestabilización y rotura de la PL junto con la disminución de la tasa de parpadeo crean una situación de riesgo que puede llegar a causar irritación ocular. Si a esto se une la presencia de ciertos componentes orgánicos en el aire (provenientes de fotocopiadoras, alfombras...) o factores personales (uso de LC, maquillaje o ciertos tipos de medicación) que también pueden afectar a la estabilidad de la PL, los síntomas pueden llegar a ser mayores. En la Figura 1 se representan los factores que afectan a la irritación ocular.



**Figura 1.** Esquema del modelo de irritación ocular. En: Wolkoff y cols. Indoor Air 2006.  
Tª: temperatura; HR: humedad relativa; PL: película lagrimal.

#### IV.2.2. Cabinas de avión

El segundo modelo de condiciones ambientales adversas que ha sido estudiado ampliamente es el de las cabinas de los aviones. Un informe realizado en 1986 de la “National Academy of Sciences” de EEUU,<sup>82</sup> identificó la humedad como uno de las cuatro áreas de investigación más importantes concernientes a los ambientes de las cabinas en los aviones, junto con el tabaco, el ozono y los aerosoles antimicrobianos. Este mismo informe estableció que los niveles de HR en las cabinas de los aviones varían entre menos de un 2% hasta un 23%.

La baja HR en las cabinas de los aviones es una consecuencia inevitable de la presurización a elevadas altitudes. El sistema de control ambiental del avión utiliza la potencia de los motores para presurizar y calentar el aire exterior a unos niveles adecuados (la presión del aire exterior es alrededor de 1/3 menor de la presión a nivel del mar y la Tª está entre -40 y -65°C).<sup>83</sup> Sin embargo, la HR del aire que sale es extremadamente baja (inferior al 1%) y la cabina permanece con una HR baja debido a que se requieren 10 o más cambios de aire por hora para mantener la

presión en la cabina, siendo las únicas fuentes de humedad adicional la respiración humana más contribuciones de la preparación de la comida, consumición de bebidas y otros usos del agua durante el vuelo.<sup>84</sup> Sin embargo, los diseños para una HR significativamente más alta tienen claras limitaciones, ya que una HR por encima del 25% provocaría una condensación del agua que podría corroer la estructura del avión.<sup>83</sup>

Ya en 1979, Eng publicó un estudio en el que analizaron los síntomas oculares mediante un cuestionario que fue suministrado a la tripulación de cabina de los aviones; el 95% de los encuestados reportaron algún tipo de incomodidad ocular durante los vuelos,<sup>85</sup> y el 60% refería utilizar algún tipo de gotas para los ojos, siendo los colirios descongestivos los más utilizados.<sup>86</sup> Este mismo autor analizó a los usuarios de LC durante los vuelos, estableciendo que la baja HR de las cabinas era, probablemente, el factor más influyente en la aparición de los síntomas.<sup>87</sup>

En un estudio realizado por Pierce y cols.<sup>88</sup> se analizó la calidad del aire y las respuestas a un cuestionario proporcionado a los viajeros y la tripulación de 8 vuelos comerciales, 4 nacionales (dentro de EEUU y con una duración entre 1600 y 2400 Km) y 4 internacionales (mayores de 4800 Km). El porcentaje de HR y T<sup>a</sup> encontrados en los vuelos fue del 16,5% y 22,8°C respectivamente para los nacionales, y del 12,9% y 23,1°C para los internacionales, con rangos de HR entre 8,8% y 27,8% y de T<sup>a</sup> entre 17,8°C y 26,1°C. Los síntomas principalmente referidos, tanto por los pasajeros como por la tripulación, fueron los de ojo seco, picor o irritación. Backman y Haghighat<sup>4</sup> estudiaron la calidad del aire en 15 aviones diferentes a distintas alturas y tiempos de vuelo, encontrando unos rangos de HR entre 1,8 y 23% y T<sup>a</sup> entre 20,2°C y 23,8°C. Norback y cols.<sup>89</sup> analizaron la influencia de la HR del aire en la aparición de síntomas de incomodidad, en la estabilidad de la PL y el sistema respiratorio en la tripulación de cabina de 16 vuelos internacionales entre Chicago y Estocolmo, y encontraron que aumentando la HR de la cabina con un humidificador (entre un 3 y un 10%), aumentaba la estabilidad de la PL y disminuían los síntomas a nivel ocular, nasal y de la piel.

### **IV.3. CONTROL DE LAS VARIABLES AMBIENTALES**

El problema de los estudios anteriores es que se ven sometidos a las variaciones climáticas tanto diurnas como anuales, pudiendo existir cambios muy grandes por ejemplo en HR y en T<sup>a</sup> entre el verano y el invierno, o entre la mañana y la noche. El otro problema es que pueden influir otros factores, como la presencia de contaminantes ambientales, que empeorarán los signos y los síntomas de forma que no se pueda concluir que el efecto producido sea por un motivo específico.

Por este motivo, la mejor forma de estudiar el efecto de las condiciones ambientales en los humanos es la de someterlos a condiciones controladas, aislandolos del ambiente externo, bien en forma de gafas (de manera que se aísla únicamente el ojo), o en CAC donde se consigue una exposición total de los sujetos, pudiendo estudiar no sólo la respuesta ocular si no de otro tipo de órganos.

#### **IV.3.1. Evaporímetro**

Aunque no es una CAC propiamente dicha, se ha considerado importante su mención debido a que con el evaporímetro se ha estudiado la interrelación entre la HR y la evaporación de la PL. El primero en medir la evaporación fue von Bahr en 1941,<sup>90</sup> con una cámara fija alrededor de una córnea de conejo, y Hamano y cols.<sup>91</sup> fueron los primeros en medirla en humanos en 1980. Sin embargo, fueron Rolando y Refojo<sup>92</sup> los primeros que describieron el evaporímetro. Mediante unas gafas de natación ajustadas fuertemente a la cara se consigue aislar la superficie ocular del medio externo; un aparato introduce aire seco en la cámara (HR 29,5%) y se mide posteriormente la humedad del aire a la salida de la misma. Con este sistema, determinaron que la tasa de evaporación en ojos normales era de  $4,07 \pm 0,40 \times 10^{-7}$  g/cm<sup>2</sup>/seg., y que aumentaba en ojos patológicos,<sup>93</sup> o tras la instilación de anestésico tópico.

Desde entonces, se han realizado numerosos estudios analizando la evaporación de la PL con diseños similares al del evaporímetro anteriormente descrito. Por ejemplo, Tsubota y Yamada<sup>94</sup> encontraron una tasa de evaporación a un 40% de HR de  $15,6 \pm 3,8 \times 10^{-7}$  g/cm<sup>2</sup>/seg. en ojos sanos y de  $9,5 \pm 5,6 \times 10^{-7}$  g/cm<sup>2</sup>/seg. en sujetos con SOS. Mathers y cols.<sup>95</sup> encontraron resultados similares para ojos sanos a un 30% de HR ( $14,7 \pm 6,4 \times 10^{-7}$  g/cm<sup>2</sup>/seg.), sin embargo la tasa de evaporación en el caso de SOS fue la mayor ( $47,6 \pm 20,1 \times 10^{-7}$  g/cm<sup>2</sup>/seg.), coincidiendo con la tendencia encontrada por Rolando y Refojo en el estudio anteriormente mencionado.<sup>92</sup> Esta discrepancia en los resultados puede estar causada por diferencias en el diagnóstico del SOS. En el último estudio publicado en este sentido,<sup>96</sup> se encontró una mayor evaporación de la PL en SOS con síndrome de Sjögren cuando se comparó con los SOS no Sjögren. Otra variable que se ha demostrado implicada en el aumento de la evaporación de la PL es el uso de LC.<sup>11, 97</sup>

Además de la medida de la evaporación de la PL, se han realizado otro tipo de estudios con el evaporímetro. Tomlinson y cols.<sup>98</sup> no encontraron relación entre la evaporación de la PL y la producción lagrimal; Craig y Tomlinson<sup>99</sup> encontraron una relación directa entre la disminución del espesor de la capa lipídica y el aumento de la evaporación de la PL; Singh y Bhinder<sup>100, 101</sup> describen un test que midiendo las diferencias de evaporación y de temperatura entre el ojo abierto y cerrado consigue un 100% de valor diagnóstico para el SOS.

Con el evaporímetro, se han encontrado cambios en la evaporación de la PL con las variaciones de HR, siendo mayor la evaporación a medida que disminuye la HR,<sup>102, 103</sup> y similar para sujetos sanos y con SOS.<sup>104</sup> En este sentido, Korb y cols.<sup>105, 106</sup> encontraron una mejoría de los síntomas y un aumento del espesor de la capa lipídica de la PL al aumentar la HR periocular con un sistema similar al evaporímetro (gafas de natación para aislar el contorno del ojo del ambiente que lo rodea). Asimismo, Yee y cols. encuentran en sujetos con síntomas y signos de ojo seco relacionados con el uso de ordenadores, una mejoría en los síntomas y en el tiempo de ruptura



lagrimal (T-BUT) empleando “microenvironment glasses” con un diseño parecido al anterior para aislar el ojo, y una disminución de la tinción con verde de lisamina si además se instilan lágrimas artificiales.<sup>107</sup>

Por último, se ha utilizado un sistema similar al de las gafas descrito anteriormente para estudiar la reacción de la SO a la exposición a diferentes condiciones, como hipoxia,<sup>108</sup> compuestos orgánicos volátiles<sup>109, 110</sup> o CO<sub>2</sub>.<sup>111</sup>

### **IV.3.2. CÁMARAS DE AMBIENTE CONTROLADO (CAC)**

Una CAC es una habitación aislada del exterior donde se pueden controlar y variar diversos factores ambientales como la Tª, HR, presión atmosférica, contaminación ambiental, actividad visual, flujo de aire...; en ella se pueden introducir sujetos de estudio durante el tiempo necesario para analizar sus respuestas a la exposición al ambiente predeterminado.

Este modelo de exposición se ha utilizado para evaluar la reacción del organismo humano (no solo a nivel ocular) a diferentes situaciones. Existen diferentes diseños de CAC y son numerosos los estudios realizados en ellas; en la Tabla 1 se pueden encontrar las características de las principales CAC utilizadas para analizar la exposición a múltiples ambientes controlados.

#### **A. Modelos de provocación alérgica en CAC**

Uno de los factores más ampliamente estudiados en las CAC son las reacciones alérgicas al polen, mediante procesos de provocación en su interior. La técnica está basada en el concepto de que una exposición uniforme a unos niveles controlados de alérgeno permite un análisis adecuado de la eficacia de un tratamiento sin las variables inherentes a estudios de exposición tradicionales (variabilidad en la cantidad y tipos de polen al que el sujeto está expuesto en su vida diaria, el periodo del año en el que los estudios de exposición al polen se pueden realizar...).

El aire que entra a la cámara es filtrado para extraer alérgenos y contaminantes externos, y es estrictamente controlado y ajustado para el tipo de alérgeno y la concentración utilizada para cada estudio; también se controlan variables como la Tª, HR, concentración de CO<sub>2</sub> y flujo de aire. La concentración de alérgeno es la constante más importante en estos sistemas, siendo seleccionada para que sea similar a los niveles encontrados en el exterior. El propósito es que todos los sujetos sean expuestos a la misma concentración de alérgeno, sin que influya su localización dentro de la cámara o el momento en que el estudio se lleve a cabo. Las condiciones resultantes permiten unos resultados altamente reproducibles y consistentes a lo largo de cada estudio.<sup>112</sup>

La primera cámara de provocación alérgica fue descrita en 1987. La “Vienna Challenge Chamber” (University Clinic, General Hospital, Vienna, Austria) fue construida por Friedrich Horak<sup>113</sup> y el primer ensayo clínico fue publicado en 1988.<sup>114</sup> Desde entonces, han sido muchos los estudios realizados en esta cámara, analizando especialmente la efectividad de fármacos antialérgicos.<sup>22, 115-141</sup> Las características de la “Vienna Challenge Chamber” están descritas en la Tabla 1.

La “Environmental Exposure Unit” (Kingston General Hospital, Ontario, Canadá), se construyó en 1981 para evaluar los efectos de ciertos compuestos utilizados para el aislamiento de los edificios, y fue modificada permanentemente en 1987 como cámara de provocación alérgica,<sup>142</sup> desde entonces se han publicado numerosos estudios realizados en esta cámara.<sup>23, 143-154</sup> Las características de la “Environmental Exposure Unit” se reflejan en la Tabla 1.

Más recientemente se han construido otras cámaras de exposición al polen en Dinamarca,<sup>155, 156</sup> Estados Unidos,<sup>157-160</sup> Alemania<sup>24, 161</sup> y Japón.<sup>162-164</sup>

Como se puede observar son numerosas las cámaras que se han desarrollado, con diferencias a nivel físico y técnico, pero con características similares:<sup>112</sup>

- Los estudios no se limitan a periodos de polinización natural.

- Exposición controlada y uniforme al alérgeno.
- No existe impacto de las condiciones ambientales.
- No hay influencia del contexto personal (participación en actividades al aire libre...).
- Asegura el cumplimiento (administración de la medicación, evaluación de los síntomas en el momento predeterminado...).
- Evaluación instantánea y precisa de los síntomas.

### **B. Modelos de exposición a contaminantes ambientales en CAC**

Otro tipo de trabajos que se han realizado en CAC, han sido aquellos que han estudiado las reacciones frente a la exposición a contaminantes ambientales (polvo, CO<sub>2</sub>...), con el objetivo de estudiar el síndrome del edificio enfermo.

Uno de los grupos que más ampliamente ha trabajado en este campo es el del Instituto de Medicina Ambiental y Ocupacional, de la Universidad de Aarhus en Dinamarca. La exposición de los individuos se hace en una cámara climática o "Climate Chamber" (Tabla 1), en la que se diseminan los contaminantes ambientales con una concentración conocida, y analizan la respuesta de los sujetos a distintos niveles. En un trabajo realizado en 1983,<sup>165</sup> se estudió la secreción mucosa nasal, la función pulmonar, la respuesta subjetiva y el rendimiento psicométrico durante 6 horas de exposición a aire limpio y diferentes concentraciones de tolueno (10, 40 y 100 ppm). El tolueno se utiliza como disolvente para pinturas, revestimientos, caucho, resinas, lacas y adhesivos, y la concentración máxima de vapor de tolueno en los lugares de trabajo es de 50 ppm. No encontraron ningún cambio a concentraciones de 10 y 40 ppm, pero a 100 ppm, los individuos reportaron irritación de nariz y ojos, además de dolor de cabeza, mareo y sensación de intoxicación.

En 1986, se publicó el resultado de un estudio en el que se expusieron a unos individuos a diferentes concentraciones de una mezcla de 22 compuestos orgánicos volátiles, todos ellos

contaminantes habituales del aire de interior.<sup>166</sup> Las concentraciones elegidas correspondían a 0 mg/m<sup>3</sup> (aire limpio), 5 mg/m<sup>3</sup> (concentración promedio encontrado en las casas de nueva construcción) y 25 mg/m<sup>3</sup> (la mayor concentración encontrada en las casas), según un estudio publicado por Molhave y Moller en 1979.<sup>167</sup> Las respuestas a las diferentes concentraciones se analizaron mediante un cuestionario, donde encontraron un efecto significativo de la exposición para las preguntas relacionadas con la calidad del aire, el olor, la facilidad para concentrarse y/o la irritación de las membranas mucosas. También encontraron un aumento en los síntomas de irritación de ojos, nariz y garganta con la exposición a 5 y 25 mg/m<sup>3</sup>.

Un estudio realizado en esta misma cámara, sirvió para demostrar el efecto deletéreo para la salud del n-decano, un contaminante habitual del aire interior que tiene su origen en los materiales de construcción,<sup>168</sup> y considerado como un compuesto no tóxico o al menos de baja toxicidad. Sin embargo, Kjaergaard y cols.<sup>169</sup> estudiaron la respuesta a concentraciones controladas dentro de la “Climate Chamber” de 0, 10, 3 y 100 µl/l de n-decano, encontrando cambios dosis-dependientes en la irritación de las membranas mucosas, un aumento en la intensidad del olor y reducción en la calidad del aire, todos ellos síntomas relacionados con el síndrome del edificio enfermo. También encontraron una disminución de la estabilidad de la PL a todas las concentraciones de exposición y un aumento en el número de leucocitos polimorfonucleares en lágrima.

Otra variable que se ha estudiado en la “Climate Chamber” ha sido la respuesta a la exposición al polvo de oficina (el polvo era aspirado en oficinas, almacenado y posteriormente dispersado en el aire de la cámara a una concentración media de 394 µg/m<sup>3</sup>).<sup>170</sup> En este estudio, encontraron, tras 3 horas de exposición, una disminución significativa en el T-BUT, un aumento significativo en síntomas como disminución de la humedad de la piel de la cara, irritación de garganta, necesidad de toser, sequedad de nariz, dificultad para concentrarse y dolor de cabeza, no encontrando cambios en la tinción conjuntival o en la formación de espuma en el borde del

párpado. En un estudio posterior publicado en 2002,<sup>26</sup> expusieron a los sujetos durante 5 horas y 15 minutos a 136 y 390  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de polvo de oficina (en comparación con aire limpio), no encontrando ningún efecto directo del polvo sobre los ojos, aunque sí se objetivó un aumento de la tinción conjuntival y una disminución del T-BUT en alguno de los grupos de estudio.

Otros autores también han estudiado los efectos de diferentes compuestos volátiles orgánicos en otras cámaras climáticas diseñadas a tal efecto. Johnsen y cols.<sup>171</sup> estudiaron las reacciones de sujetos asmáticos a la exposición durante 6 horas a los compuestos provocados por objetos que habitualmente se encuentran en oficinas o casas, como papel pintado, alfombras..., encontrando cambios significativos en la capa lipídica de la PL. Wieslander y cols.<sup>172</sup> analizaron la respuesta al propilen-glicol, una sustancia de baja toxicidad que se utiliza habitualmente como aditivo en las comidas, en preparaciones farmacéuticas, cosméticos, pinturas y generadores de humos de discotecas. Tras 1 minuto de exposición a la niebla creada por un generador de humo dentro de un simulador de vuelo, se encontró una disminución del T-BUT y un aumento de los síntomas oculares y de garganta.

Por último, el modelo de exposición controlada también ha sido utilizado para estudiar el efecto del humo de tabaco,<sup>25</sup> donde se establece que los ojos son los órganos más sensibles a las sustancias irritantes del tabaco (monóxido de carbono, formaldehído y acroleína), seguidos por la nariz.

### **C. Modelos de control de variables ambientales en CAC**

Parece claro que hay muchas sustancias que provocan síntomas de irritación ocular y alteran la estabilidad de la PL. Sin embargo, y por la relación con el modelo que se presenta en el presente trabajo, parece lógico profundizar en los estudios que analizan la influencia sobre el ojo de ciertas variables ambientales de forma controlada, como puede ser la HR, la  $T^a$  y las corrientes de aire.

Andersen y cols., además de analizar los efectos de los contaminantes ambientales, estudiaron en su modelo de “climate chamber” el efecto de la HR. Evaluaron los cambios encontrados entre HR de 10, 30, 50 y 70%,<sup>173</sup> y entre 9 y 50%.<sup>174</sup> Encontraron que la HR baja afectaba a la percepción de humedad en labios, parte dorsal de las manos y ojos en menor medida. Los autores concluyen que la duración del experimento puede ser de vital importancia y que la mínima duración está alrededor de las 3 horas. Las características de este modelo están reflejadas en la Tabla 1.

Carleton y Welch,<sup>175</sup> evaluaron los efectos de la HR (entre 20 y 80%) con cambios de la presión atmosférica (258-700 mmHg), concluyendo que los síntomas y las quejas de incomodidad, que aumentaban rápidamente con HR por debajo de 27%, aparecían a partir de las 4 horas, y que aparecen antes y alcanzan niveles más severos con presiones atmosféricas reducidas. En la misma línea, Eng y cols.<sup>176</sup> estudiaron el efecto de las bajas presiones atmosféricas en una cámara hipobárica de aviación en usuarios de LC, sobre la agudeza visual, refracción, queratometría y biomicroscopía, no encontrando ningún cambio significativo.

McIntyre y Griffiths,<sup>177, 178</sup> realizaron una serie de tres experimentos en la “Environmental Chamber” (Electricity Council Research Centre, Inglaterra) en los que estudiaron la influencia de la HR; los detalles de esta CAC pueden verse en la Tabla 1. En el primer estudio, en el que se expuso a los sujetos a tres HR diferentes (20, 50 y 75%) y a dos T<sup>a</sup> distintas (23 y 28°C) durante 5 horas, encontraron que los individuos reportaban cambios en la percepción de la humedad ambiental a 28°C, refiriendo tener los ojos más húmedos a 28°C con una HR de 75% (sin cambios a 23°C); con respecto a la duración, no encontraron ninguna mejoría en la detección de las diferencias de HR al pasar de las 3 horas de exposición.<sup>177</sup>

En otro experimento, con un diseño similar al anterior, pero en este caso con 5 HR diferentes (de 20 a 60% en incrementos de 10%) y una sola T<sup>a</sup> (23°C), no se encontró ningún efecto de la HR ni en la percepción por parte de los sujetos ni en los efectos de la HR en las variables

evaluadas.<sup>178</sup> Sin embargo, en su tercer estudio (6 HR diferentes, de 20 a 70% en incrementos de 10%, y una Tª de 23°C), encontraron una relación lineal entre la HR y la percepción de sequedad de la piel y una mayor irritación ocular a HR de 20% con respecto al resto.<sup>178</sup> Estas diferencias en los resultados pueden ser debidas a las diferencias entre los diseños de los dos primeros estudios y el tercero, ya que en los primeros cada individuo fue expuesto una sola vez dentro de la cámara (a una HR y una Tª), y en el último todos los individuos fueron expuestos a todas las variables evaluadas (las 6 HR). A la vista de estos resultados, los autores señalan la importancia de hacer estos experimentos con un diseño de medidas repetidas.<sup>178</sup>

Sunwoo y cols.,<sup>179</sup> en una cámara climática en el Research Center for Human Environmental Adaptation (Kyushu University), en un experimento en el que compararon 3 HR (10, 30 y 50%) a una Tª de 25°C con una exposición de 3 horas, encontraron que una HR por debajo de 30% provocaban un aumento de la tasa del parpadeo y sequedad de los ojos y de la piel, y que por debajo de 10% aparecía sequedad de la mucosa nasal. Al analizar las diferencias entre sujetos jóvenes y mayores,<sup>180</sup> encontraron que los jóvenes (media de edad  $21,7 \pm 0,8$ ) tenían más síntomas de sequedad de ojos y garganta que los mayores (media de edad  $71,1 \pm 4,1$ ).

Strom-Tejsen y cols.<sup>181</sup> expusieron a los sujetos a 4 condiciones diferentes durante un periodo de 7 horas en una cabina de avión construida dentro de una cámara climática (Internacional Centre for Indoor Environment and Energy, Technical University, Dinamarca). Las condiciones utilizadas son: HR de 28,4; 16,0; 11,2 y 9,4% que se consiguen variando la tasa de renovación del aire de la cabina (1,4; 3,3; 4,7 y 9,4 l/seg/persona, respectivamente) y una Tª constante de 23,2°C. En la evaluación de la calidad del aire, los sujetos mostraron una mayor irritación de garganta a los 10 minutos del comienzo del experimento en la condición de 1,4 l/seg/persona que en la de 9,4 l/seg/persona, no habiendo otros cambios a lo largo del experimento (incluido el síntoma de irritación ocular). Con referencia al ambiente de la cabina, los sujetos percibieron a las 3,5 horas del experimento los cambios en la HR y una disminución de los síntomas de sequedad con HR

mayores, hallazgo que no encontraron a las 6 horas. No encontraron cambios para las distintas condiciones en la agudeza visual o en el test de “ferning” (cristalización del moco de la PL).

Por último, Wyon y cols.<sup>182</sup> estudiaron el efecto de las corrientes de aire en la SO, exponiendo a los sujetos a valores de 1 m/seg y 0,5 m/seg en una cámara y a un promedio de 0,67 m/seg en un coche con aire acondicionado. Encontraron una disminución del T-BUT con velocidades del aire de 1 m/seg., un aumento de la producción lagrimal y en el test de ferning en las exposiciones dentro de la cámara, sin cambios en la cantidad de proteínas de la PL (albúmina) o en la tinción corneal con verde de lisamina.

Sin embargo el modelo más completo hasta ahora que controla las variables externas para el análisis de la SO es el “Controlled Adverse Environment (CAE) model”. Este modelo está creado en una CAC (Boston, EEUU), y consiste en la exposición durante periodos de tiempo definidos a una HR y Tª fijas, un flujo de aire no turbulento, niveles de iluminación controlados y tarea visual constante (ver la televisión, uso de ordenador), para producir y/o exacerbar los signos y síntomas de ojo seco.<sup>1</sup> Este modelo fue descrito por primera vez en 1998 (Giovanoni A, et al. *IOVS* 1998;39:ARVO Abstract 2467,p.537) y publicado en 2002,<sup>1</sup> y sus características están reflejadas en la Tabla 1.

Con este modelo se pretende preseleccionar sujetos con una reacción basal reproducible y homogénea en los que los efectos de los tratamientos para el SOS puedan ser evaluados en condiciones estándar adversas.<sup>183</sup> Los sujetos de estudio en esta cámara son sujetos con diagnóstico previo de SOS y que han demostrado una reacción positiva a la exposición al CAE.

Ousler y cols.<sup>30</sup> encontraron que al exponer a los sujetos al CAE durante una hora, aparecía un periodo de alivio temporal de los síntomas de incomodidad ocular, que denominaron “compensación natural”. Este fenómeno aparece antes en sujetos normales (a los 10 minutos de exposición) y con SOS leve o moderado (20 minutos), que con SOS severo (>40 minutos o no llega a ocurrir). Los autores especulan sobre la posibilidad de que este hecho sea debido a los



mecanismos compensatorios normales del ojo como el parpadeo o el lagrimeo, que intentan impedir el daño de la SO cuando se ha llegado a unos niveles de incomodidad intolerables. En esta misma línea, Casavant y cols. (Casavant J, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 77) encontraron una tendencia a aumentar la tasa de parpadeo en sujetos con SOS después de 90 minutos de exposición, aumentando de forma significativa en las mujeres con SOS menopáusicas con respecto a las pre-menopáusicas (Ousler GW, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 80).

Con el modelo de CAE, también se ha visto una correlación entre la sensibilidad corneal central y la aparición de síntomas de incomodidad ocular en sujetos con SOS, encontrando un aumento significativo de los síntomas en ojos con sensibilidad corneal normal (medida con el estesiómetro de Cochet-Bonet) a los 22,7 minutos, y en los ojos con sensibilidad corneal disminuida a los 38,5 minutos (Emory T, et al. *IOVS* 2003;44:ARVO E-Abstract 2483).

Otro aspecto que se ha estudiado es la correlación entre la aparición de síntomas o signos durante la exposición al CAE y los años de duración del diagnóstico de SOS. Encontraron que aquellos sujetos que desarrollaban sólo síntomas, llevaban diagnosticados una media de  $3,81 \pm 3,18$  años, mientras que los que desarrollaban sólo signos tenían un diagnóstico de SOS desde hacía  $7,02 \pm 3,58$  años (Casavant J, et al. *IOVS* 2005;46:ARVO E-Abstract 4455). En otro estudio, encontraron un aumento de los síntomas de incomodidad ocular en aquellos pacientes que desarrollaban mayor tinción corneal central con fluoresceína, relación no observada en otros sitios de la córnea (Ousler GW, et al. *IOVS* 2006;47:ARVO E-Abstract 281).

El CAE ha demostrado afectar también a sujetos sanos, encontrando un aumento de la incomodidad ocular y de la tasa de parpadeo a los 90 minutos de exposición (Ousler GW, et al. *IOVS* 2002;43:ARVO E-Abstract 56), y del enrojecimiento y la tinción con fluoresceína en la zona de la carúncula y el pliegue semilunar (Ousler GW, et al. *IOVS* 2000;41:ARVO Abstract 4936,p.928).

Otro grupo de estudios realizados con el modelo de CAE es el de la efectividad de los tratamientos para SOS, y aunque se han reportado en reuniones científicas, los resultados de estos estudios no han sido publicados; y así, se han probado lubricantes oculares compuestos con glicerina al 1% (Ousler GW, et al. *IOVS* 1999;40:ARVO Abstract 2847,p.540), lágrimas artificiales con Polyquad (Meadows DL, et al. *IOVS* 2003;44:ARVO E-Abstract 2487), compuestos con diquafosol al 2% (Kellerman DJ, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 3892), pimecrolimus al 0,1, 0,3 y 1% (Ousler GW, et al. *IOVS* 2005;45:ARVO E-Abstract 2031), suplementos orales (Pratt SG, et al. *IOVS* 2005;45:ARVO E-Abstract 2047) o doxiciclina (Crampton J, et al. *IOVS* 2007;48:ARVO E-Abstract 402; Ousler GW, et al. *IOVS* 2008;49:ARVO E-Abstract 102). También se han evaluado los efectos sobre la PL y la SO de los antihistamínicos orales<sup>184, 185</sup> y de fármacos para el tratamiento del glaucoma.<sup>27</sup>

#### **D. Modelos de control de variables ambientales en CAC en usuarios de LC**

La tolerancia a las LC está claramente relacionada con las condiciones ambientales. Y así, se ha demostrado que el trabajo en oficinas con baja HR (<30%) provoca, en portadores de LC, una disminución del T-BUT y un aumento de depósitos en la superficie de las LC, con respecto a aquellos que trabajan en oficinas con una HR mayor (>40%).<sup>14</sup>

También se han encontrado relaciones con otro tipo de ambientes adversos, como el uso de ordenadores,<sup>186</sup> los viajes en avión<sup>12</sup> o la estancia en ambientes con polvo o humo.<sup>187</sup>

Sin embargo, también en el campo de las LC existen estudios realizados con control de las variables atmosféricas, como la HR, la T<sup>a</sup> o el flujo de aire, similares a los mencionados anteriormente con el modelo de exposición a ACA dentro de CAC.

Laviana y cols.,<sup>188</sup> en un estudio realizado en una cámara ambiental situada en la Universidad de Kansas, con sujetos con una LC en un ojo y sin LC en el otro (HR: 10 y 30%, T<sup>a</sup>: 24°C, duración: 10 horas), encontraron una relación directa entre los síntomas de irritación e incomodidad ocular

y la baja HR, tanto con como sin LC. También concluyen que estos síntomas aparecen de forma más pronunciada a partir de las 4 horas de exposición.

Maruyama y cols.,<sup>31</sup> realizaron un estudio con 11 usuarios de LC en una cámara ambiental (Tabai Espec Co. Ltd., Osaka, Japón), exponiéndolos durante 15 minutos a 4 condiciones controladas de HR y T<sup>a</sup> (10%, 5°C; 20%, 15°C; 40%, 25°C y 50%, 35°C), y utilizando dos tipos diferentes de LC: alta y baja hidratación. Encontraron que a medida que disminuía la HR y la T<sup>a</sup>, los patrones interferenciales de la PL disminuían significativamente de espesor, había una disminución en el NIBUT y un aumento de los síntomas de sequedad, siendo mayores estos síntomas en las LC con mayor contenido en agua. Las características de esta cámara están indicadas en la Tabla 1. Estos mismos autores expusieron a usuarios de LC de alta hidratación a 4 condiciones diferentes, en las que variaba la velocidad del aire dirigido directamente a uno de los ojos del sujeto (0,0; 0,5; 1,0 y 5,5 m/s) manteniendo la HR y la T<sup>a</sup> estables a 40% y 25°C respectivamente (Maruyama K, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 1559). Estos autores encontraron que a medida que aumentaba la velocidad del aire, disminuía el espesor de los patrones interferenciales y el NIBUT y aumentaban los síntomas de sequedad.

En un estudio realizado con 6 usuarios de LC, expuestos durante 200 minutos a 3 condiciones de HR y T<sup>a</sup> (5% y 30°C; 70% y 22°C; 90% y 5°C) en una cámara ambiental del Netherlands Aerospace Medical Centre (Holanda), Morgan y cols.<sup>32</sup> no encontraron ningún efecto de las condiciones ambientales estudiadas en la deshidratación de las LC ni cambios en la comodidad, aunque sí encontraron diferencias en cuanto a la deshidratación entre los dos tipos de LC estudiados.

#### **E. Modelos de control de variables ambientales en animales**

Existen numerosos modelos animales de SOS en los que se ha creado una insuficiencia lagrimal, como los modelos de inflamación lagrimal en ratón, rata o conejo en los que se ha demostrado

una infiltración de la glándula lagrimal con linfocitos T CD4<sup>+</sup>,<sup>189</sup> o como los logrados mediante el control mecánico de la secreción lagrimal por escisión quirúrgica de la glándula lagrimal.<sup>189</sup> Otros modelos en animales de SOS, se han obtenido mediante el control neural de la secreción lagrimal, por ejemplo provocando un bloqueo del reflejo neural implicado en mantener la fisiología normal de la PL,<sup>45</sup> mediante la administración de atropina tópica al 1% a conejos,<sup>190</sup> o por la interrupción del control neural parasimpático preganglionar mediante la escisión del nervio petroso superficial mayor en conejos.<sup>191</sup>

Aunque menos numerosos, también existen modelos de SOS evaporativo, en los que se ha inhibido el parpadeo<sup>192</sup> o se han cauterizado las glándulas de Meibomio<sup>193</sup> en conejos. Un modelo completo de queratoconjuntivitis sicca es el que se produce de forma espontánea en perros, utilizado para desarrollar y evaluar terapias para el SOS, como es el ejemplo de la ciclosporina A.<sup>48</sup>

Sin embargo, la inducción de estrés mediante control ambiental también ha sido utilizada para crear modelos animales de SOS. El primer modelo que se describió fue el que propusieron Dursum y cols.,<sup>28</sup> en el que conjugan la aplicación de parches transdérmicos de escopolamina y la exposición a un flujo de aire continuo para inducir SOS en ratones. La función de la escopolamina es la de inducir un bloqueo farmacológico de los receptores colinérgicos (muscarínicos) en la glándula lagrimal para producir una disminución de la secreción lagrimal, mientras que el flujo de aire en las jaulas de los ratones se utiliza para simular condiciones ambientales estresantes (producido por un ventilador durante 1 hora, 3 veces al día durante 4 días consecutivos). Este modelo ha demostrado cambios en la superficie epitelial similares a los encontrados en el SOS en humanos, como tinción corneal con fluoresceína, alteración de la barrera epitelial corneal, disminución de la densidad de las células caliciformes, aumento de la proliferación de las células epiteliales conjuntivales y disminución de la producción y del aclaramiento lagrimal. Con este modelo también se ha demostrado un aumento de citoquinas

inflamatorias en lágrima,<sup>194, 195</sup> y la presencia de inflamación de córnea, conjuntiva y glándula lagrimal mediada por células T.<sup>196</sup>

Más tarde, Barabino y cols. modifican el modelo de SOS anteriormente expuesto controlando más exhaustivamente las variables atmosféricas y eliminando el control farmacológico.<sup>29, 197</sup> Los ratones fueron expuestos a una HR de  $18,5 \pm 5,1\%$ , una  $T^a$  de  $21-23^{\circ}\text{C}$  y un flujo de aire de 15 l/min durante 3, 7, 14 y 28 días, demostrando una disminución de la secreción lagrimal y de la densidad de las células caliciformes, y un aumento de la tinción corneal con fluoresceína desde el tercer día de exposición. Un modelo similar ha sido utilizado más recientemente por Chen y cols.<sup>198</sup> demostrando una disminución de la producción de lágrima, aumento de la tinción corneal con fluoresceína, aumento de la descamación y disminución del espesor del epitelio del apex corneal, aparición de metaplasma escamosa y disminución de la densidad de células caliciformes de la conjuntiva en los animales que estuvieron durante 42 días expuestos a una HR de  $15,3 \pm 3\%$ , una  $T^a$  de 21 a  $23^{\circ}\text{C}$  y un flujo de aire entre  $2,1 \pm 0,2$  m/s. con respecto a los controles (42 días expuestos a HR 60-80%, sin flujo de aire y una  $T^a$  de 21 a  $23^{\circ}\text{C}$ ).

En esta misma línea, Nakamura y cols.<sup>199</sup> crearon otro modelo de SOS en rata en el que exponen a los animales a HR de  $25 \pm 5\%$ ,  $T^a$  de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y flujo de aire de 2-4m/seg. Además, las sitúan en un balancín durante 8 horas al día con la intención de crear una frecuencia de parpadeo anormalmente baja. Con este modelo, se ha demostrado una disminución de la tasa de parpadeo, del test de Schirmer y del aclaramiento corneal y un aumento del punteado corneal mientras las ratas estaban en el balancín.

Por último, Choy y cols.<sup>200, 201</sup> han descrito un modelo de ojo seco con ojos de cerdo enucleados, el “porcine dry eye model” (pDEM) para estudiar los efectos de diferentes intervalos de lacrimación y parpadeo sobre las células epiteliales de la córnea porcina.



**Tabla 1:** Características de las CAC descritas en publicaciones científicas.

Modelo CAC Localización geográfica	Variable estudiada	HR (%)	Tª (°C)	Velocidad del aire	Duración de los estudios	Características de la CAC
Vienna Challenge Chamber <sup>113, 132, 140</sup> <i>Universidad de Viena, Austria</i>	Polen: entre 700-2.000 g/m <sup>3</sup> aire	30-45 (variaciones de 1,5)	24-26 (variaciones de 0,5)	N/R	2-6 horas	Tamaño: 5,25x2,60x2,70m Nº sujetos: hasta 14
Environmental Exposure Unit <sup>142</sup> <i>Universidad de Queens, Canadá</i>	Polen: entre 200-10.000 g/m <sup>3</sup> aire	35-60	18-24	6 cambios de aire por hora	Hasta 14 horas	Tamaño: 20x12x3 m Nº sujetos: hasta 160
Climate Chamber <sup>165, 166</sup> <i>Universidad de Aarhus, Dinamarca</i>	Compuestos orgánicos volátiles: diferentes tipos y concentraciones	23,3 ± 3	23 ± 0,4	5-10 cm/seg	2,75-6 horas	Tamaño: 83 m <sup>3</sup> Nº sujetos: N/R
Climate Chamber <sup>173, 174</sup> <i>Universidad de Aarhus, Dinamarca</i>	HR: 9% y 50%; 10, 30, 50 y 70%	9-70	23	0,1 m/seg	7-78 horas	Tamaño: 83 m <sup>3</sup> Nº sujetos: N/R
Environmental Chamber <sup>177, 178</sup> <i>Electricity Council Research Centre, Inglaterra</i>	Tª: 23 y 28°C HR: 20, 50 y 75%	20-75	23-28	<0,1 m/seg	1 ½- 6 horas	Tamaño: 3,7x3,7x2,5 Nº sujetos: 4
Controlled Adverse Environment <sup>1, 183</sup> <i>Ophthalmic Research Associates, Boston, EEUU</i>	Tª: 24,4 ± 3,4°C HR: 5-10% Aire: no turbulento Tarea visual: ver televisión, uso de ordenador	10-40 (variaciones de 3)	24,4 ± 3,4	N/R	1-1 ½ horas	N/R
Environmental Chamber <sup>31</sup> <i>Universidad de Medicina, Kioto, Japón</i>	HR y Tª: 10%, 5°C HR y Tª: 20%, 15°C HR y Tª: 40%, 25°C HR y Tª: 50%, 35°C	20-95	(-)10-60	N/R	15 minutos	Tamaño: 4,07x3,67x2,33 Nº sujetos: N/R
CAC: cámara de ambiente controlado; HR: humedad relativa; Tª: temperatura; N/R: no reportado.						





## *V. MATERIAL Y MÉTODOS*

---



## **V.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Debido a que el propósito de este trabajo era determinar si las condiciones ambientales adversas creadas mediante una CAC podrían alterar una SO normal o ligeramente alterada de sujetos con síntomas mínimos de SOS, se eligieron voluntarios sanos que sólo presentaban ligeros síntomas de SOS cuando llevaban puestas sus LC, permaneciendo asintomáticos cuando no las usaban.

Estos individuos fueron sometidos a un ACA en una CAC durante dos horas (situación experimental) y bajo unas condiciones que se detallan más abajo. Como situación “control” se eligió un ambiente interior normal (AIN), en el que los mismos individuos pasaran buena parte de su tiempo, como la biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, midiéndose las variables ambientales cada cierto tiempo.

En estos individuos, y bajo ambas condiciones ambientales (controlada con CAC y ambiente interior), se estudiaron las siguientes situaciones, tal y como se comentó en los objetivos:

- Efecto sobre los síntomas y signos de SOS
- Efecto del porte de LC sobre la SO
- Si el tiempo de permanencia en las condiciones de ACA podría determinar diferencias entre los dos tipos de LC estudiadas
- Si las posibles alteraciones inducidas podrían ser reversibles

Para ello, este trabajo se planteó como un estudio prospectivo, en el que los sujetos fueron siempre primero sometidos a las condiciones experimentales (ACA) y, posteriormente, a la situación control (AIN). Los sujetos fueron expuestos tres veces a cada situación (condición experimental y condición control), primero sin LC, y posteriormente, de forma aleatoria, doble enmascarada y cruzada, se analizaron los dos tipos de LC del estudio.

A continuación, se describen con más detalle todos los aspectos metodológicos de este estudio.

## **V.2. GRUPO MUESTRAL**

Debido a que los sujetos de este estudio son individuos que presentan síntomas de SOS de forma leve y ocasional, se decidió reclutar a individuos jóvenes y sanos que hubieran desarrollado únicamente signos y/o síntomas de SOS únicamente relacionados con el uso de LC, y que los presentaran exclusivamente durante el uso de las mismas.

Se reclutaron 10 sujetos para este estudio. El tamaño muestral fue aconsejado por el Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad de Valladolid (Prof. Agustín Mayo Iscar), y se seleccionó para detectar diferencias por debajo de 2 segundos sobre las medidas iniciales en el NIBUT y de 3 mm en el test de Schirmer. Con este propósito, se utilizó información sobre la variabilidad de estas pruebas,<sup>202</sup> junto con una hipótesis relativa a la ganancia estimada en la potencia, debido a la naturaleza pareada del diseño de este estudio.

Los criterios de inclusión fueron:

1. Sujetos sanos con edades comprendidas entre los 18 y 40 años.
2. Refracción subjetiva en equivalente esférico comprendida entre -1.00 y -5.00 dp y astigmatismo subjetivo menor de -0.75 dp.
3. Usuarios de LCH de reemplazo mensual durante al menos 6 meses, con un uso habitual de al menos cinco días a la semana y mínimo seis horas al día.
4. Obtención de los siguientes resultados en la evaluación de la visita de inclusión:
  - 4.1. Que presenten sintomatología de sequedad ocular durante el uso de sus LC (al menos un síntoma graduado con "2" del cuestionario de sintomatología de ojo seco (SIDEQ).
  - 4.2. Asintomáticos mientras no usen LC
  - 4.3. Al menos tres de los siguientes tests dentro de los límites de la normalidad:
    - a) Tiempo de ruptura lagrimal (T-BUT)  $\geq 10\text{seg}$ <sup>203</sup>
    - b) Tinción corneal con fluoresceína negativa<sup>204</sup>
    - c) Tinción conjuntival con rosa de Bengala negativa<sup>205</sup>

d) Test de Schirmer con anestesia  $\geq 5\text{mm}$  a los 5 minutos<sup>42</sup>

e) Concentración de lisozima en lágrima  $\geq 1000 \mu\text{g/ml}$ <sup>206, 207</sup>

5. Que entiendan y firmen el consentimiento informado

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

1. Cualquier patología o cirugía ocular.
2. Uso de medicación tópica ocular y sistémica desde tres meses antes del estudio.
3. Patología sistémica que, a juicio médico, impida que el paciente esté sometido a las condiciones ambientales de la CAC (HR:  $20 \pm 5\%$ , T<sub>a</sub>:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ )

La naturaleza de la investigación y los protocolos fueron explicados a los sujetos antes de la firma del consentimiento informado, el cual fue obtenido en la visita de inclusión. El estudio siguió los principios de la Declaración de Helsinki y el protocolo fue aprobado por la Comisión de Investigación del IOBA y por el Comité Ético de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid.

### **V.3. CONDICIONES AMBIENTALES DEL ESTUDIO**

Los sujetos fueron expuestos a dos condiciones ambientales, que diferían entre ellas principalmente en la HR ambiental.

#### ***Ambiente controlado adverso (ACA) creado en una CAC***

Los sujetos fueron expuestos a un ACA en una CAC localizada en el Laboratorio de Acondicionamiento, en la Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Valladolid.

Dicha CAC consiste en una habitación aislada de 4,6 m de ancho, 5,8 m de largo y 2,5 m de altura. Dos de las paredes y el techo están contruidos en escayola, mientras que las otras dos paredes son de cristal doble, para permitir la observación del interior de la CAC desde fuera. El techo está fabricado con madera cubierta de linóleo (Figura. 2).



Figura 2: Aspecto interior de la cámara de ambiente controlado y zona de control de variables ambientales, Laboratorio de Acondicionamiento (Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Valladolid).

La CAC está equipada con un sistema cerrado de circulación del aire, que consiste en un conducto circular con rejillas de ventilación.

La  $T^a$  y la HR pueden ser controladas de forma muy precisa entre 20°C y 30°C y entre 15% y 80% respectivamente, con una tolerancia de un 10%. Para el control de la  $T^a$ , el sistema de aire acondicionado de la CAC (SDH 105 TD Saunier-Duval, Remscheid, Alemania), tiene una capacidad de enfriamiento de 10,20 Kw, y una capacidad de calefacción de 11,6 kW. Para reducir la HR, la espiral interna del sistema de aire acondicionado se utilizó para condensar el vapor de agua del aire. Para conseguir un control más estable de la HR, se utilizó un humidificador de 1.13 kW y 1.5 kg/h (Humisteam UE001PD000, Carel, Padua, Italia).

El control de las condiciones ambientales de la CAC fue cuidadosamente supervisado durante la exposición de los sujetos mediante dos sistemas portátiles de medida de la Tª y la HR (635 y 645 Testo, Lenzkirch, Alemania), que se colocaron dentro de la CAC. En todo momento, los parámetros ambientales fueron controlados por personal experto (Beatriz de la Fuente y Clodoaldo Ortega) perteneciente al Laboratorio de Acondicionamiento (Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Valladolid), bajo la supervisión del Prof. Jesús Feijó (Dpto. de Construcciones Arquitectónicas, Ingeniería del Terreno y Mecánica de los Medios Continuos y Teoría de Estructuras).

Para este estudio, la Tª se fijó en 22°C y la HR en un 20%. Los valores reales medidos fueron de  $22.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$  y  $19.0 \pm 4.0\%$  (media  $\pm$  error estándar de la media) respectivamente, sin flujo de aire y realizando una tarea visual constante (lectura).

La selección de estas condiciones se basó en los estudios de Abelson y cols. (Ousler GW, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 80; Kellerman DJ, et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 3892), que crearon unas condiciones de ACA de <10% de HR durante 90 min. Para este trabajo, se seleccionaron condiciones menos extremas pero más comunes de HR (20%) y una duración ligeramente superior (2 horas).

#### *Ambiente interior normal (AIN)*

Cuatro semanas después de la exposición al ACA, los sujetos fueron expuestos a condiciones de AIN. Este ambiente real se obtuvo en una sala de estudio de la biblioteca de la Facultad de Medicina, en el edificio de Ciencias de la Salud (Universidad de Valladolid). Durante dos horas, los sujetos realizaron la misma actividad visual que durante la exposición al ACA.

La Tª y la HR se midieron en dos lugares diferentes dentro de la habitación, con una estación meteorológica (EMR812GHN, Oregon Scientific, Tualatin, OR, EEUU) a diferentes horas del día (9:00, 13:00 y 18:00 horas). La Tª y HR medias fueron de  $24.2 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$  y  $34.8 \pm 2.9\%$

respectivamente. Como todo el experimento se llevó a cabo en invierno, el ambiente en la biblioteca estaba acondicionado artificialmente con un sistema de calefacción sin flujo de aire.

#### **V.4. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS**

Se realizaron los siguientes exámenes en el orden que se indica a continuación:

##### *Sintomatología relacionada con SOS*

La comodidad se evaluó en una escala de valoración visual (EVV) de 0 a 10,<sup>208, 209</sup> donde los sujetos debían indicar la comodidad que sentían en ese momento en una línea vertical de 10 cm, en la que cada centímetro estaba señalado con una marca horizontal y su número correspondiente. El extremo inferior (marca “0”) indicaba incomodidad extrema y el extremo superior (marca “10”) indicaba máxima comodidad. Posteriormente se midió con una regla milimetrada la distancia desde el extremo inferior, dándole a este un valor de “cero” hasta el superior con un valor de “diez”, anotando el resultado de esta medida.

Para evaluar los síntomas, se utilizó el cuestionario de sintomatología de ojo seco “Single Item Score Dry Eye Questionnaire” (SIDEQ), utilizado en ensayos clínicos por compañías farmacéuticas, donde se valoró la presencia o ausencia de varios síntomas de SOS en una escala de 0 a 4 (Tabla 2). La puntuación total se obtuvo de la suma de las puntuaciones parciales obtenidas en cada uno de los síntomas.



<b>Tabla 2:</b> Cuestionario de sintomatología de ojo seco (SIDEQ)		
Sequedad		<b>Escala de puntuación:</b>  0= no he sentido el síntoma  1= rara vez he sentido el síntoma, pero no es molesto  2= alguna vez he sentido el síntoma, me causa molestias pero no interfiere en mis actividades  3= siempre siento este síntoma, me causa molestias pero no interfiere en mis actividades  4= siempre siento este síntoma, me causa molestias y además interfiere en mis actividades
Sensación de cuerpo extraño en el ojo		
Quemazón/ escozor		
Dolor		
Picor		
Sensibilidad a la luz		
Visión borrosa		
Otros (especificar)		

#### *Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (NIBUT)*

El NIBUT evalúa la estabilidad de la película lagrimal de forma no invasiva, para lo que se utilizó el Tearscope Plus (Keeler, Windsor, Berkshire, England, UK). Se pidió al sujeto que parpadeara varias veces, y que luego se mantuviera sin parpadear hasta que se le indicara; se proyectó la retícula luminosa sobre la superficie anterior de la córnea, y se contó el tiempo que tardó en aparecer la imagen deformada, lo que indicaba inestabilidad de la PL.

Esta medida se realizó tres veces, utilizando la media de estas tres medidas<sup>210</sup> y se consideraron valores alterados a aquellos que permanecían por debajo de los 10 segundos.<sup>211</sup>

Para evaluar el NIBUT pre-LC, se procedió de la misma forma que la anteriormente descrita, sólo que la imagen de la retícula luminosa se proyectó en la superficie de la LC, cuando esta era utilizada.

#### *Hiperemia conjuntival bulbar y limbar*

La hiperemia conjuntival se evaluó con una lámpara de hendidura (SL-8Z, TOPCON corporation, Tokyo, Japan) en una escala decimal de 0,1 grados (rango de 0 a 4).<sup>204</sup> Se evaluaron por separado las hiperemias bulbar (Figura 3) y la limbar (Figura 4). Una hiperemia de 2,6 o mayor fue considerada como anormal.<sup>212</sup>



Figura 3. Escala gráfica de hiperemia bulbar.<sup>204</sup>



Figura 4. Escala gráfica de hiperemia limbar.<sup>204</sup>

#### *Test del rojo de fenol*

Este test se utiliza para medir la secreción de la PL de una forma menos invasiva que el test de Schirmer.<sup>213</sup>

Se insertó una tira del test de rojo de fenol, que consiste en un hilo de algodón impregnado en rojo de fenol (Zone Quick Test, Menicon Ca, LTD, Nagoya, Japan), en el tercio temporal del fórnix conjuntival inferior. Se pidió al sujeto que mantuviera la mirada al frente, pudiendo parpadear de forma natural. Después de 15 segundos se retiró la tira y se midió la longitud del filamento que se había humedecido con lágrima (y por tanto el rojo fenol había virado a color rojo),<sup>213</sup> anotando este resultado. Valores de 20 mm o menores se consideraron fuera de los límites normales.<sup>214</sup>

#### *Tiempo de ruptura lagrimal invasivo (T-BUT)*

El T-BUT evalúa la estabilidad de la PL de una forma invasiva. Se humedeció previamente una tira de fluoresceína sódica (Fluorets, Chauvin, Aubenas, Francia) con suero fisiológico al 0,9%

(NaCl 0,9% 10 ml, B/Braun, Barcelona, España). Posteriormente, ésta fue aplicada suavemente en el fórnix conjuntival inferior, se pidió al sujeto que parpadeara tres veces (para permitir la dispersión de la fluoresceína por la PL) y que posteriormente se mantuviera sin parpadear hasta que se le indicara.

Se observó al sujeto en la lámpara de hendidura a 16X, con el filtro azul cobalto en el sistema de iluminación y el filtro amarillo en el sistema de observación. El T-BUT es el tiempo que tarda en aparecer el primer punto negro (indicativo de ruptura de la PL), y se anotó la media de tres medidas.<sup>215</sup> Valores de 10 segundos o menores se consideraron como anormales.<sup>203</sup>

### *Tinción de cornea y conjuntiva*

La tinción de la cornea se observó con fluoresceína sódica. La tira fue humedecida ligeramente con suero fisiológico 0.9% y suavemente aplicada en el fórnix conjuntival inferior. Se dividió el área de observación en 5 regiones (central, superior, inferior, nasal y temporal), y cada zona fue graduada en una escala de 0 a 4 en pasos de 0,1 grados (Figura 5).<sup>204</sup>



Figura 5: Escala gráfica de tinción corneal con fluoresceína.<sup>204</sup>



Figura 6: Escala gráfica de tinción conjuntival con fluoresceína.<sup>204</sup>

La puntuación obtenida para cada región se sumó para obtener una puntuación final. La evaluación de la tinción conjuntival con fluoresceína se puntuó de forma similar (Figura 6),<sup>204</sup> excepto que se dividió en 4 regiones (superior, inferior, nasal y temporal).

Para la tinción conjuntival con rosa de bengala, se utilizaron tiras de rosa de bengala (Akorn Inc, Buffalo Grove, IL, EEUU) previamente humedecidas con suero fisiológico 0.9% y aplicadas suavemente al fórnix conjuntival inferior. Para su valoración, se utilizó la escala de graduación de Oxford (Figura 7).<sup>205</sup> La tinción con rosa de bengala se utilizó únicamente en la visita de inclusión, con el fin de evitar cualquier interferencia con el uso de LC del estudio.

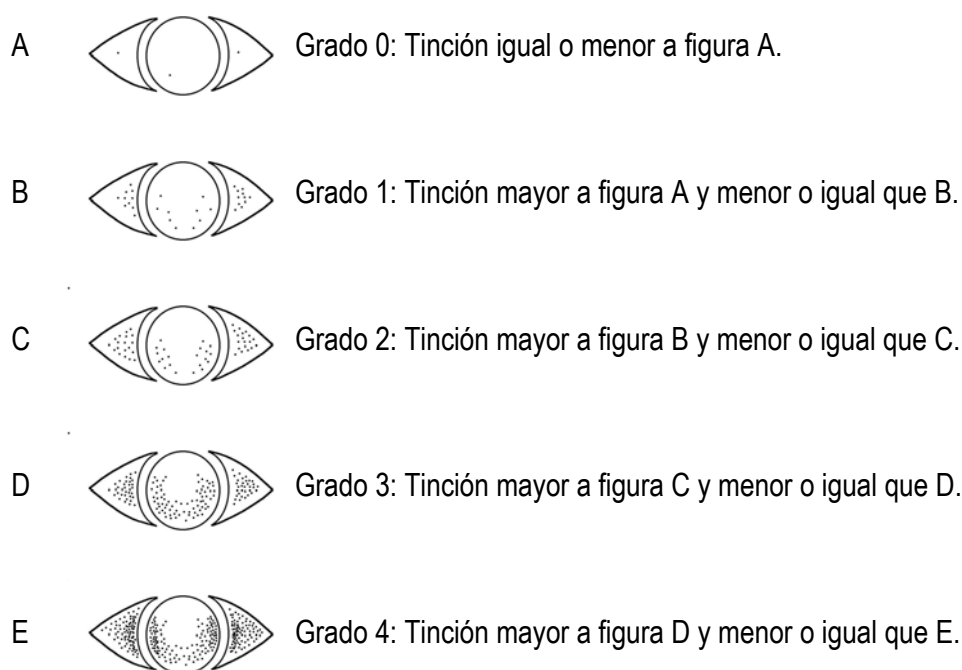


Figura 7: Escala gráfica de tinción conjuntival con rosa de Bengala.<sup>205</sup>

La presencia de cualquier grado diferente del grado 0 de tinción con fluoresceína o con rosa de bengala se consideró como anormal.

### *Concentración de lisozima lagrimal*

Para determinar la concentración de lisozima en lágrima se realizó la prueba de difusión en agar de *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC 4698, M3770; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EEUU).<sup>216</sup> Este test se seleccionó como un marcador de SOS hiposecretor,<sup>206</sup> y se utiliza de forma rutinaria en las unidades clínicas del IOBA.

Se cogieron muestras de lágrima aplicando un disco de 5mm de papel de filtro en el fondo de saco conjuntival inferior en ambos ojos durante 1 minuto, permaneciendo el sujeto durante este tiempo con los ojos cerrados. Las muestras se mantuvieron a -20°C hasta que se procesaron.

Cada papel de filtro con la muestra de lágrima se aplicó sobre la superficie de una placa de Petri con *Micrococcus lysodeikticus* (el inóculo fue de  $2 \times 10^6$  CFU/ml) en medio Agar Mueller Hinton (Bio Merieux, Marcy l'Etoile, Francia) y se incubó en una estufa a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se midió el halo de inhibición de la lisozima en la placa.

La concentración de lisozima en lágrima se determinó por comparativa con una recta patrón obtenida de medir el halo de inhibición producido por los mismos papeles de filtro en el mismo medio de cultivo embebidos en concentraciones de lisozima conocidas de 10.000, 1.000, 100 y 10 µg/ml (ATCC 4698, L6876; Sigma-Aldrich) diluida en solución salina tamponada (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EEUU).

Se consideraron valores anormales aquellos iguales o inferiores a 1.000 µg/ml.<sup>206, 207</sup>

### *Test de Schirmer*

Para anestesiar la SO, se instiló una gota de anestésico tópico (0,5% tetracaína y 0,5% oxibuprocaina, Colircusí Anestésico Doble, Alcon-Cusí, Barcelona, España); tras 2 minutos, se retiró el exceso de lágrima aplicando la punta de un pañuelo de papel en el fondo de saco conjuntival. Se utilizó una tira de filtro estandarizada (Schirmer's Tear Test Strips, 5x35 mm, Alcon Laboratories, Inc., Forth Worth, TX, EEUU) y, doblándola por la primera marca, se colocó en el tercio externo del párpado inferior por donde había sido doblada.<sup>217</sup> Con la habitación

débilmente iluminada, el sujeto permaneció sentado con los ojos cerrados durante 5 minutos, transcurridos los cuales, se retiró la tira y se midió con una regla milimetrada la cantidad de papel que se había mojado en lágrima, anotando dicha medida como resultado del test. Valores de 5 mm o inferiores se consideraron como fuera de los límites normales.<sup>42</sup>

### *Adaptación de las LC*

Con el fin de evaluar la tolerancia de las LC en las distintas condiciones ambientales se procedió a la adaptación de las LC. Se trabajó con radio y diámetro únicos, con lo que la selección de la LC únicamente se hizo por la potencia.

Los parámetros utilizados fueron:

- Lentes de contacto de hidrogel de silicona (LCHSi): Air Optix; Lotrafilcon B, moldeada, hidratación: 33%, DK: 138, espesor central: 0.08mm, radio base: 8.60, diámetro total: 14.20 (Ciba Vision, Duluth, GA, EEUU).
- Lentes de contacto de hidrogel convencional (LCHC): Focus Visitint; Vifilcon A, moldeada, hidratación: 55%, DK: 20, espesor central: 0.1mm, radio base: 8.60, diámetro total: 14.00 (Ciba Vision, Duluth, GA, EEUU).

La adaptación de las LC se evaluó con la lámpara de hendidura (con luz blanca y 16X), y se realizó según los siguientes criterios:

- Cobertura corneal completa.
- LC centrada en todas las posiciones de mirada.
- Movimiento de 1-2 mm con el parpadeo.

## **V.5. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se expusieron a los sujetos a dos condiciones ambientales, primero a un ACA ( $T^a 22.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$  y  $\text{HR } 19.0 \pm 4.0\%$ ) creado en una CAC, situada en el Laboratorio de Acondicionamiento (Escuela Técnica Superior de Arquitectura, Universidad de Valladolid) y, posteriormente, a un AIN ( $T^a 24.2$

$\pm 1.3^{\circ}\text{C}$  y  $\text{HR } 34.8 \pm 2.9\%$ ), creado en la sala de estudio de la biblioteca de la Facultad de Medicina (Edificio de Ciencias de la Salud, Universidad de Valladolid), con una diferencia de 30 días entre el final de la exposición a la primera condición ambiental (condición experimental) y el inicio de la segunda (condición control).

Las evaluaciones previas y posteriores a la exposición a los ambientes controlados, se realizaron en la sala pre-CAC en el caso de la condición experimental ACA y en el área clínica del IOBA en la condición control AIN, ambas salas contiguas a la zona de exposición, de forma que se aseguró una evaluación inmediata después de la exposición a los ambientes estudiados.

Entre las dos exposiciones ambientales, los sujetos completaron un total de 7 visitas (V0-V6) y de 16 evaluaciones (E1-E16) entre las visitas V1-V6. Una vez incluidos en el estudio tras la visita de inclusión (V0), los sujetos fueron evaluados justo antes y después de haber sido expuestos a ACA (V1-V3) o a AIN (V4-V6). En ambos ambientes, fueron evaluados sin LC (V1 y V4), con LCHSi Air Optix (V2 y V5) y con LCHC Focus Visitint (V3 y V6).

Dentro de cada exposición ambiental, las visitas sin LC se realizaron las primeras (V1 y V4), pero el orden de las visitas con uno u otro tipo de LC fue aleatorio (V2 con V3 y V5 con V6). Entre las visitas de cada exposición ambiental transcurrieron entre 4 y 7 días.

A continuación, se describen cada una de las visitas y evaluaciones, así como las condiciones y los tests que se realizaron en cada visita (Tabla 3).

#### V.5.1. Visita 0 (V0- inclusión-)

##### Condiciones de la visita:

- Lugar: área clínica del IOBA, Edificio de Ciencias de la Salud.
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos dos horas antes de la visita.

##### Evaluaciones realizadas:

En la visita de inclusión, se determinó si el sujeto era candidato o no para el estudio según los criterios de inclusión y exclusión anteriormente expuestos. Para determinarlo, se realizaron las siguientes pruebas clínicas:

- Historia ocular y general
- SIDEQ con y sin LC
- T-BUT
- Tinción corneal con fluoresceína y conjuntival con rosa de Bengala
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima en lágrima
- Test de Schirmer con anestesia

Si el sujeto cumplía los criterios de inclusión, se le informó sobre la naturaleza del estudio y se pasó a firmar el consentimiento informado.

Entre V0 y V1 transcurrieron un mínimo de 1 día y un máximo de 14 días.

#### **V.5.2. Condición experimental ambiente controlado adverso (ACA)**

Esta parte del estudio constó de 3 visitas y de 8 evaluaciones.

##### **Visita 1 (V1)**

##### **Condiciones de la visita:**

- Lugar: la exposición al ACA se realizó en la CAC (Laboratorio de Acondicionamiento, ETS Arquitectura) y las exploraciones se hicieron en la sala donde está situada la CAC.
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 0 y la 1 no transcurrieron menos de 24 horas ni más de 14 días.



Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en dos situaciones:

*Evaluación 1 (E1):* Pre ACA sin LC

Antes de entrar en la CAC, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente, se procedió a aclarar el ojo con suero fisiológico, y después de 30 minutos el sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la CAC (condiciones controladas de  $T^a$  y de HR de  $22 \pm 2$  °C y  $20 \pm 5\%$  respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

A la hora de permanencia en la CAC, el sujeto valoró la comodidad ocular con la EVV.

*Evaluación 2 (E2):* Post ACA sin LC

Al finalizar las dos horas de estancia en la CAC y antes de salir, se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ

El sujeto salió de la CAC, y se tomaron las siguientes medidas de forma inmediata:

- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

## **Visita 2 (V2)**

### Condiciones de la visita:

- Lugar: la exposición al ACA se realizó en la CAC (Laboratorio de Acondicionamiento, ETS Arquitectura) y las exploraciones se hicieron en la sala donde está situada la CAC.
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 1 y la 2 transcurrieron un mínimo de 2 días y un máximo de 5.

### Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en tres situaciones:

#### *Evaluación 3 (E3): Pre ACA sin LC*

Antes de entrar en la CAC, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente, se procedió a aclarar el ojo con suero fisiológico, y pasados 10 minutos se insertó la primera LC de trabajo (LCHSi).

#### *Evaluación 4 (E4): Pre ACA con LC*

A los 30 minutos de uso de las LC las variables a determinar fueron:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Evaluación de la adaptación

El sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la CAC (condiciones controladas de  $T^a$  y de HR de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $20 \pm 5\%$  respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

A la hora de permanencia en la CAC, el sujeto valoró la comodidad ocular con la EVV.

*Evaluación 5 (E5): Post ACA con LC*

Al finalizar las dos horas de estancia en la CAC y antes de salir, se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ

El sujeto salió de la CAC, y se tomaron las siguientes medidas de forma inmediata:

- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

### **Visita 3 (V3)**

Condiciones de la visita:

- Lugar: la exposición al ACA se realizó en la CAC (Laboratorio de Acondicionamiento, ETS Arquitectura) y las exploraciones se hicieron en la sala donde está situada la CAC).

- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 2 y la 3 transcurrieron un mínimo de 2 días y un máximo de 5.

#### Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en tres situaciones:

##### *Evaluación 6 (E6): Pre ACA sin LC*

Antes de entrar en la CAC, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente, se procedió a aclarar el ojo con suero fisiológico, y pasados 10 minutos se insertó la segunda LC de trabajo (LCHC).

##### *Evaluación 7 (E7): Pre ACA con LC*

A los 30 minutos de uso de las LC las variables a determinar fueron:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Evaluación de la adaptación

El sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la CAC (condiciones controladas de  $T^a$  y de HR de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  y  $20 \pm 5\%$  respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

A la hora de permanencia en la CAC, el sujeto valoró la comodidad ocular con la EVV.

*Evaluación 8 (E8): Post ACA con LC*

Al finalizar las dos horas de estancia en la CAC y antes de salir, se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ

El sujeto salió de la CAC, y se tomaron las siguientes medidas de forma inmediata:

- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

Al final de la visita 3 el sujeto contestó a la pregunta: ¿cuál de las dos LC prefiere?

**V.5.3. Condición control ambiente interior normal (AIN)**

Esta parte del estudio constó de 3 visitas y de 8 evaluaciones, y siguió una metodología similar a la expuesta para la condición experimental ACA.

**Visita 4 (V4)**

Condiciones de la visita:

- Lugar: la exposición al AIN se realizó en la sala de estudio de la biblioteca de la Facultad de Medicina, y las exploraciones en el área clínica del IOBA (situados ambos en el Edificio de Ciencias de la Salud y próximos el uno del otro).
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 3 y la 4 no transcurrieron menos de 3 semanas ni más de 5.

#### Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en dos situaciones:

##### *Evaluación 9 (E9): Pre AIN sin LC*

Antes de la exposición al AIN, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente se procedió a aclarar el ojo, y después de 30 minutos el sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la sala de estudio de la biblioteca (condiciones de T<sup>a</sup> y de HR de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $19 \pm 4\%$  respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

##### Evaluación 10 (E10): Post AIN sin LC

Al finalizar las 2 horas de estancia en la sala de la biblioteca, el sujeto se trasladó al área clínica del IOBA y se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

El tiempo que transcurrió entre el cese de la exposición al AIN y la evaluación de los sujetos nunca fue mayor de 5 minutos.

#### **Visita 5 (V5)**

##### Condiciones de la visita:

- Lugar: la exposición al AIN se realizó en la sala de estudio de la biblioteca de la Facultad de Medicina, y las exploraciones en el área clínica del IOBA (situados ambos en el Edificio de Ciencias de la Salud y próximos el uno del otro).
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 4 y la 5 transcurrieron un mínimo de 2 días y un máximo de 5.

##### Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en tres situaciones:

##### *Evaluación 11 (E11): Pre AIN sin LC*

Antes de la exposición al AIN, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV

- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente se procedió a aclarar el ojo con suero fisiológico, y pasados 10 minutos se insertó la primera LC de trabajo (LCHSi).

*Evaluación 12 (E12): Pre AIN con LC*

A los 30 minutos de uso de las LC las variables a determinar fueron:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Evaluación de la adaptación

El sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la sala de estudio de la biblioteca (condiciones de T<sup>a</sup> y de HR de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $19 \pm 4\%$  respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

*Evaluación 13 (E13): Post AIN con LC*

Al finalizar las 2 horas de estancia en la sala de la biblioteca, el sujeto se trasladó al área clínica del IOBA y se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol



- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

El tiempo que transcurrió entre el cese de la exposición al AIN y la evaluación de los sujetos nunca fue mayor de 5 minutos.

### **Visita 6 (V6)**

#### Condiciones de la visita:

- Lugar: la exposición al AIN se realizó en la sala de estudio de la biblioteca de la Facultad de Medicina, y las exploraciones en el área clínica del IOBA (situados ambos en el Edificio de Ciencias de la Salud y próximos el uno del otro).
- Uso de LC: previamente a esta visita, el sujeto debía permanecer al menos 24 horas sin sus LC.
- El sujeto debía haber permanecido despierto al menos 2 horas antes de la visita.
- Tiempo entre visitas: entre la visita 5 y la 6 transcurrieron un mínimo de 2 días y un máximo de 5.

#### Evaluaciones realizadas

Se evaluó al sujeto en tres situaciones:

#### *Evaluación 14 (E14): Pre AIN sin LC*

Antes de la exposición al AIN, se determinaron las siguientes variables en el orden expuesto:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)

Posteriormente se procedió a aclarar el ojo con suero fisiológico, y pasados 10 minutos se insertó la segunda LC de trabajo (LCHC).

*Evaluación 15 (E15): Pre AIN con LC*

A los 30 minutos de uso de las LC las variables a determinar fueron:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT pre-LC
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Evaluación de la adaptación

El sujeto ingirió 20 cl de agua y entró en la sala de estudio de la biblioteca (condiciones de T<sup>a</sup> y de HR de 22 ± 2°C y 19 ± 4% respectivamente), dentro de la que permaneció durante 2 horas realizando tareas de lectura de material científico.

*Evaluación 16 (E16): Post AIN con LC*

Al finalizar las 2 horas de estancia en la sala de la biblioteca, el sujeto se trasladó al área clínica del IOBA y se realizaron las siguientes pruebas:

- EVV
- SIDEQ
- NIBUT
- Hiperemia conjuntival (bulbar y limbar)
- Test de rojo de fenol
- Tinción con fluoresceína (corneal y conjuntival)
- Toma de muestras para la medida de la concentración de lisozima lagrimal
- Test de Schirmer con anestesia

El tiempo que transcurrió entre el cese de la exposición al AIN y la evaluación de los sujetos nunca fue mayor de 5 minutos.

**Tabla 3:** Descripción de las visitas y protocolo de los tests realizados en cada evaluación

	Nº Visita	Nº Evaluación	Descripción Evaluación		TEST REALIZADO									
					EVV	SIDEQ	NIBUT	NIBUT pre-LC	Hiperemia conjuntival	Test rojo de fenol	Adaptación LC	Tinción fluoresceína	Lisozima lagrimal	Test de Schirmer
Exposición ACA	V1	E1	Pre ACA	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E2	Post ACA	Sin LC	X	X	X		X	X		X	X	X
	V2	E3	Pre ACA	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E4	Pre ACA	Con LCHSi	X	X		X	X		X			
		E5	Post ACA	Con LCHSi	X	X		X	X	X		X	X	X
	V3	E6	Pre ACA	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E7	Pre ACA	Con LCHC	X	X		X	X		X			
		E8	Post ACA	Con LCHC	X	X		X	X	X		X	X	X
Exposición AIN	V4	E9	Pre AIN	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E10	Post AIN	Sin LC	X	X	X		X	X		X	X	X
	V5	E11	Pre AIN	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E12	Pre AIN	Con LCHSi	X	X		X	X		X			
		E13	Post AIN	Con LCHSi	X	X		X	X	X		X	X	X
	V6	E14	Pre AIN	Sin LC	X	X	X		X	X		X		
		E15	Pre AIN	Con LCHC	X	X		X	X		X			
		E16	Post AIN	Con LCHC	X	X		X	X	X		X	X	X

V: visita; E: evaluación; ACA: ambiente controlado adverso; AIN: ambiente interior normal; LC: lente de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional; EVV: escala de valoración visual; SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco.



## **V.6. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO**

El tratamiento estadístico de este trabajo ha sido realizado por el Dr. Agustín Mayo Iscar, profesor del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad de Valladolid.

Los resultados se han expresado como la media  $\pm$  el error estándar de la media (SEM). Además, se añadió la media geométrica para aquellas variables en las que se utilizó la transformación logarítmica (NIBUT y concentración de lisozima lagrimal) y, con la intención de ganar en interpretabilidad, se recuperó posteriormente la escala habitual. La media geométrica tiene una representación como  $e^{\text{media}(\ln(x))}$ .

Cuando un test se realizó en los dos ojos, se utilizó la media de las dos medidas para el análisis estadístico.

Entre los distintos métodos disponibles para analizar los datos, con algunas medidas ordinales, se utilizaron aquellos que pertenecen a la familia de los tests paramétricos, debido al convencimiento de que todas las variables medidas en este estudio (en el caso del NIBUT y de la concentración de lisozima lagrimal después de la transformación logarítmica) apoyan la hipótesis que denominamos “S”, que sostiene que para 3 valores cualquiera como X, Y y Z, el cambio en magnitud entre X y X+Z es clínicamente comparable a la diferencia existente entre Y e Y+Z.

Considerando que la hipótesis “S” es cierta, tiene entonces sentido sumar valores de diferentes sujetos; en esta situación, la media es un resumen eficiente de la localización de los valores observados y el SEM puede ser utilizado como una medida del error estimado.<sup>218-222</sup> El uso de esta metodología implica necesariamente admitir que la hipótesis “S” es cierta. Además, los procedimientos paramétricos de comparación de medias son muy robustos frente a desviaciones de la normal, excepto cuando se aplican a distribuciones de colas muy pesadas,<sup>223</sup> no siendo el caso de los datos que se presentan en este trabajo.

Para analizar las diferencias entre las medidas obtenidas en las diferentes evaluaciones (E1 a E16), se utilizó un método de comparaciones múltiples basado en la teoría de Tukey. Se realizó el Test de Mauchly y las estimaciones de epsilon para comprobar si se verificaba la condición de esfericidad. El NIBUT y la concentración de lisozima lagrimal verificaron esta condición después de aplicar una transformación logarítmica. Para las variables que aparecían con evidencias de violación de la hipótesis de esfericidad, se utilizó una estimación de la varianza separada con un procedimiento de comparaciones múltiples.

Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando el p-valor fue  $p \leq 0.05$ .

#### Tratamiento de los datos

Para evaluar la influencia de la exposición al ACA o al AIN, se compararon las medias obtenidas en las variables antes (E1, E4, E7, E9, E12 y E15) y después (E2, E5, E8, E10, E13 y E16), respectivamente, de la exposición a la condición experimental o control.

Para evaluar el efecto del uso de LC en las condiciones de ACA y de AIN, se compararon las diferencias entre las evaluaciones pre y post sin LC (para ACA: E2-E1; para AIN: E10-E9) con las diferencias entre las evaluaciones pre y post con LCHSi (para ACA: E5-E4; para AIN E13-E12) y con LCHC (para ACA: E8-E7, para AIN: E16-E15).

Para analizar la influencia del tipo de LC, se comparó el cambio producido por el uso de LCHSi o de LCHC tanto en ACA (E5-E4 versus E8-E7) como en AIN (E13-E12 versus E16-E15).

La recuperación a corto plazo se definió como la falta de cambios significativos entre 4 y 10 días después de la exposición al ACA, entre E1 y E6 (ACA sin LC), o después de la exposición al AIN entre E9 y E14 (AIN sin LC). La recuperación a largo plazo para el ACA (5 semanas) se definió como la ausencia de cambios entre E1 y E9 (ACA sin LC) o entre E7 y E15 (ACA con LC).

Para determinar la preferencia de los individuos, al finalizar la visita 3 se pidió a los sujetos que contestaran a la pregunta: “¿cuál de las dos LC prefiere?”.

## ***VI. RESULTADOS***

---





## **VI.1. GRUPO MUESTRAL Y VISITA DE INCLUSIÓN**

Se incluyeron en el estudio un total de 3 hombres y 7 mujeres, con una media de edad de  $25,2 \pm 0,9$  (rango, 22 - 34) años. La media de la miopía fue de  $-3,6 \pm 0,2$  (rango, -1,50 a -5,75) dp. Los sujetos habían utilizado LC durante una media de  $4,9 \pm 0,5$  (rango, 3 – 8) años y con un promedio de uso de  $8,6 \pm 0,5$  (rango, 6 - 12) horas al día.

Los resultados de la visita 0 (inclusión) se encontraron dentro de los criterios de inclusión para todos los individuos inicialmente seleccionados, como se puede observar en la Tabla 4. Todos los sujetos estaban asintomáticos mientras no utilizaban LC y reportaron sequedad únicamente durante el uso de LC, de acuerdo con lo exigido en los criterios de inclusión.



**Tabla 4:** Resultados de los test realizados durante la visita de inclusión (V0) para cada paciente.

Test	Sujeto número										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Media ± SEM
SIDEQ con LC (0-4 por síntoma)											
Sequedad	1	2	2	1	2	1	3	2	3	1	1,8 ± 0,25
Sensación de cuerpo extraño	2	2	0	2	2	1	1	0	2	2	1,4 ± 0,27
Quemazón/ escozor	2	0	0	0	1	0	1	0	2	1	0,7 ± 0,26
Dolor	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0,3 ± 0,21
Picor	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0,4 ± 0,22
Sensibilidad a la luz	0	0	1	0	0	0	2	0	0	2	0,5 ± 0,27
Visión borrosa	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0,3 ± 0,21
Otros	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0 ± 0,00
Puntuación total (0-32)	6	4	4	4	6	4	9	2	7	7	5,3 ± 0,65
Test SOS (OD/OI)											
T-BUT (segundos)	4/7	9/9	5/8	13/20	7/5	23/10	9/8	10/11	11/11	12/12	10,1 ± 1,03
Tinción corneal fluoresceína (0-4)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0,1 ± 0,05
Tinción conjuntival rosa bengala (0-4)	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0,2 ± 0,08
Test Schirmer (mm/5 min)	10/14	12/16	5/8	6/6	6/12	20/24	15/11	30/30	20/20	12/15	13,5 ± 1,84
Concentración lisozima lagrimal (µg/ml)	1815/ 1815	2666/ 3300	1741/ 1741	2464/ 2464	2310/ 2310	4642/ 3511	3311/ 3311	2464/ 2894	2464/ 2097	5511/ 2994	2791,2 ± 215,78
Número de tests alterados	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/0	1/1	0/0	0/1	0/0	
SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco; LC: lentes de contacto; SEM: error estándar de la media; SOS: síndrome de ojo seco; OD: ojo derecho; OI: ojo izquierdo; T-BUT: tiempo de ruptura lagrimal.											



## **VI.2. CAMBIOS INDUCIDOS POR LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL**

Las medias de los valores obtenidos en todas las evaluaciones y las diferencias significativas encontradas se encuentran reflejadas en la Tabla 5. Para el análisis del NIBUT y de la concentración de lisozima lagrimal, se ha trabajado con la transformación logarítmica; en la tabla 5 se indica la media de esta transformación y entre paréntesis la media geométrica para mejorar la comprensión de los datos obtenidos.

Los valores basales iniciales (E1, E3, E6, E9, E11 y E14) de todas las variables estuvieron dentro de los límites de la normalidad. Para evaluar la influencia de la exposición al ACA o al AIN, se compararon las medias obtenidas en las variables antes (E1, E4, E7, E9, E12 y E15) y después (E2, E5, E8, E10, E13 y E16) de la exposición a la condición experimental o a la condición control.

Durante la exposición al ACA, se evaluó la comodidad (con la EVV) a la hora y a las 2 horas. En la exposición al ACA sin LC o con LCHSi, no hubo cambios significativos después de 1 ó 2 horas (Figuras 8 y 9). Sin embargo, con las LCHC, hubo una reducción constante de la comodidad, con una disminución de  $0,47 \pm 0,10$  ( $p < 0,05$ ) entre el valor inicial y 1 hora de porte, y de  $0,49 \pm 0,14$  ( $p < 0,05$ ) entre los valores obtenidos a la hora y a las 2 horas (Figuras 8 y 9). No hubo cambios significativos en la comodidad después de la exposición al AIN en ninguno de los tres casos estudiados (Figura 10).

En cuanto a la evaluación de la sintomatología (SIDEQ), mostró una tendencia a incrementar en todas las visitas, pero no llegó a mostrar diferencias significativas en ninguna de las condiciones estudiadas (Figuras 11 y 12). El NIBUT disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) en el ACA sin LC (E1-E2), pero no lo hizo con ninguno de los dos tipos de LC estudiados (E4-E5 para LCHSi; E7-E8 para LCHC) (Figura 13). La exposición al AIN no provocó ningún cambio (Figura 14).

Hubo aumentos significativos para las hiperemias, tanto bulbar como limbar, en las condiciones de ACA (Figuras 15 y 17, respectivamente) y de AIN (Figuras 16 y 18, respectivamente) con

LCHC (E7-E8 y E15-E16, respectivamente), con LCHSi no se encontró ningún cambio significativo; sin LC únicamente hubo un incremento significativo en la hiperemia limbar en condiciones de ACA (E1-E2).

Los valores del test de rojo fenol tendieron a disminuir en todas las situaciones (Figuras 19 y 20), y hubo disminución significativa para las condiciones de ACA sin LC (E1-E2) y de AIN con LCHC (E14-E16), no habiendo diferencias con las LCHSi. No se encontraron cambios significativos para la tinción corneal con fluoresceína (Figuras 21 y 22), pero la tinción conjuntival con fluoresceína aumentó significativamente en el ACA sin LC (E1-E2) y en el ACA y el AIN con LCHSi (E3-E5 y E11-E13, respectivamente), no habiendo cambios para las LCHC (Figuras 23 y 24).

Los valores encontrados para la concentración de lisozima lagrimal (Figuras 25 y 26) y el test de Schirmer (Figuras 27 y 28) no cambiaron significativamente después de 2 horas de exposición al ACA o al AIN, tanto sin LC como con los dos tipos de LC.

En resumen, tras 2 horas sometidos a ACA sin LC, los sujetos mostraron una disminución significativa del NIBUT y del test de rojo de fenol, y un incremento significativo tanto de la hiperemia limbar como de la tinción conjuntival con fluoresceína. Cuando los sujetos llevaban LC, se observó un aumento significativo de la tinción conjuntival con fluoresceína por el uso de LCHSi tanto en ACA como en AIN; con respecto a las LCHC, se observó una disminución significativa en la comodidad del porte durante el ACA, un aumento significativo de las hiperemias (bulbar y limbar) tanto en ACA como en AIN, y una disminución significativa del test de rojo de fenol durante la exposición al AIN.

### **VI.3. EFECTO DEL USO DE LC EN CONDICIONES DE ACA Y DE AIN**

Para evaluar el efecto del uso de LC en las condiciones de ACA y de AIN, se compararon las diferencias entre las evaluaciones pre y post sin LC (para ACA: E2-E1; para AIN: E10-E9) con

las diferencias entre las evaluaciones pre y post con LCHSi (para ACA: E5-E4; para AIN: E13-E12) y con LCHC (para ACA: E8-E7, para AIN: E16-E15) (Tabla 5).

Se encontró una mayor disminución del NIBUT sin LC que con los dos tipos de LC estudiadas en el ACA (Figura 13); dicho efecto no apareció en el AIN (Figura 14). El test de rojo de fenol mostró una mayor disminución con LCHC que sin ellas en las dos situaciones de ACA (Figura 19) y AIN (Figura 20), no encontrando esta diferencia en el caso de las LCHSi. En el caso de la tinción conjuntival con fluoresceína, se vio un aumento significativo cuando se llevaban las LCHSi tanto para el ACA (Figura 23) como para el AIN (Figura 24), cambio no encontrado en el caso de portar las LCHC.

En resumen, hay una mayor reducción del NIBUT en el ACA cuando no se llevan LC que con ellas, el test de rojo de fenol disminuye más con LCHC que sin ellas tanto en ACA como en AIN, y la tinción conjuntival aumenta más con LCHSi que sin ellas para los dos ambientes estudiados.

#### **VI.4. COMPARACIÓN ENTRE LAS LCHSi Y LCHC**

Para analizar la influencia del tipo de LC, se comparó el cambio producido por el uso de LCHSi o de LCHC tanto en ACA (E5-E4 versus E8-E7) como en AIN (E13-E12 versus E16-E15) (Tabla 5). En el caso de las LCHC, los sujetos refirieron estar significativamente más incómodos tras las 2 horas de exposición al ACA que cuando portaron las LCHSi (Figura 9), no existiendo diferencias significativas en el AIN (Figura 10); también se observó una mayor disminución en el test de rojo de fenol que cuando se utilizaron las LCHSi, siendo la diferencia significativa en el AIN (Figura 20).

El uso de LCHSi produjo un mayor aumento de la tinción conjuntival con fluoresceína comparándolo con el uso de LCHC, siendo la diferencia significativa tanto para ACA (Figura 23), como para AIN (Figura 24).

Al preguntar a los sujetos al final del estudio cuál de las dos LC estudiadas preferían, 6 respondieron que preferían las LCHSi al final del estudio, argumentando todos ellos motivos de comodidad. Los cuatro restantes prefirieron las LCHC, existiendo en este caso más discrepancia en el motivo: uno comentó que había sentido picor en la inserción de las LCHSi, otro que se encontraba más cómodo con las LCHC y dos que habían notado más sequedad con las LCHSi. En resumen, el uso de LCHC alteró más la comodidad en ACA y el test de rojo de fenol en AIN, y el uso de LCHSi produjo un mayor aumento de la tinción conjuntival con fluoresceína en las dos condiciones ambientales estudiadas.

## **VI.5. SEGURIDAD DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES (ACA Y AIN)**

Se estudió la reversibilidad de los cambios provocados por el ACA y el AIN para evaluar la seguridad de las condiciones ambientales utilizadas. Para esto, se definió la recuperación a corto plazo como la falta de cambios significativos entre 4 y 10 días después de la exposición al ACA, entre E1 y E6 (ACA sin LC), o después de la exposición al AIN entre E9 y E14 (AIN sin LC). Para el ACA se definió la recuperación a largo plazo (5 semanas) como la ausencia de cambios entre E1 y E9 (ACA sin LC) o entre E7 y E15 (ACA con LCHC).

El análisis de la recuperación a corto plazo para el ACA sin LC mostró que entre 4 y 10 días después de la exposición hubo una mejoría de los síntomas, y para el AIN sin LC la hiperemia limbar mejoró significativamente (Tabla 5).

El análisis de la recuperación a largo plazo después de la exposición al ACA también mostró que los valores habían vuelto prácticamente a sus valores previos. Así, 30 días después de la exposición al ACA, tanto sin como con LC, los valores fueron similares o incluso mejores que los iniciales. Los valores del NIBUT y de la hiperemia limbar mejoraron significativamente para el ACA con LCHC (Tabla 5).



**Tabla 5:** Resultados (media  $\pm$  SEM) de los diferentes parámetros evaluados en cada visita.

Visita	EVV	SIDEQ	NIBUT	Hiperemia bulbar	Hiperemia limbar	Test rojo de fenol	Tinción corneal	Tinción conjuntival	Lisozima lagrimal	Test de Schirmer
<b>VO</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	7,88 (2657,71) $\pm$ 0,09	13,55 $\pm$ 1,80
<b>V1 (ACA sin LC)</b>										
E1	8,50 $\pm$ 0,38	0,60 $\pm$ 0,22 <sup>E6</sup>	2,43 (11,34) $\pm$ 0,13 <sup>E2</sup>	1,76 $\pm$ 0,04	1,61 $\pm$ 0,04 <sup>E2</sup>	25,80 $\pm$ 1,93 <sup>E2</sup>	0,70 $\pm$ 0,17	0,75 $\pm$ 0,29 <sup>E2</sup>	-	-
E2	7,70 $\pm$ 0,52	1,89 $\pm$ 0,98	2,18 (8,31) $\pm$ 0,10	1,87 $\pm$ 0,06	1,70 $\pm$ 0,03	22,35 $\pm$ 2,25	0,95 $\pm$ 0,30	1,30 $\pm$ 0,36	7,90 (2707,35) $\pm$ 0,18	18,25 $\pm$ 2,79
<b>V2 (ACA con LCHSi)</b>										
E3	9,15 $\pm$ 0,23	0,10 $\pm$ 0,10	2,12 (8,29) $\pm$ 0,10	1,85 $\pm$ 0,05	1,70 $\pm$ 0,04	23,05 $\pm$ 2,52	0,55 $\pm$ 0,19	0,95 $\pm$ 0,33 <sup>E5</sup>	-	-
E4	8,63 $\pm$ 0,26	0,30 $\pm$ 0,15	1,51 (4,54) $\pm$ 0,06	1,93 $\pm$ 0,04	1,77 $\pm$ 0,04	-	-	-	-	-
E5	8,16 $\pm$ 0,43	1,40 $\pm$ 0,64	1,48 (4,41) $\pm$ 0,08	2,00 $\pm$ 0,07	1,96 $\pm$ 0,08	21,40 $\pm$ 1,95	0,25 $\pm$ 0,13	6,55 $\pm$ 1,01	8,06 (3165,29) $\pm$ 0,17	15,95 $\pm$ 2,61
<b>V3 (ACA con LCHC)</b>										
E6	9,14 $\pm$ 0,23	0,00 $\pm$ 0,00	2,11 (8,24) $\pm$ 0,10	1,85 $\pm$ 0,07	1,65 $\pm$ 0,08	22,80 $\pm$ 2,23	0,30 $\pm$ 0,25	0,75 $\pm$ 0,34	-	-
E7	8,99 $\pm$ 0,15 <sup>E8</sup>	0,60 $\pm$ 0,22	1,57 (4,80) $\pm$ 0,08 <sup>E15</sup>	1,84 $\pm$ 0,06 <sup>E8</sup>	1,75 $\pm$ 0,05 <sup>E8;E15</sup>	-	-	-	-	-
E8	8,02 $\pm$ 0,30	1,00 $\pm$ 0,30	1,59 (4,90) $\pm$ 0,08	2,03 $\pm$ 0,09	1,98 $\pm$ 0,11	18,90 $\pm$ 1,72	0,60 $\pm$ 0,22	1,85 $\pm$ 0,45	7,90 (2707,78) $\pm$ 0,16	15,25 $\pm$ 2,82
<b>V4 (AIN sin LC)</b>										
E9	9,02 $\pm$ 0,33	0,40 $\pm$ 0,22	2,46 (11,69) $\pm$ 0,08	1,87 $\pm$ 0,05	1,63 $\pm$ 0,06 <sup>E14</sup>	23,60 $\pm$ 2,29	0,30 $\pm$ 0,11	0,00 $\pm$ 0,00	-	-
E10	8,82 $\pm$ 0,30	0,50 $\pm$ 0,27	2,52 (12,42) $\pm$ 0,11	1,93 $\pm$ 0,06	1,67 $\pm$ 0,07	22,65 $\pm$ 2,08	0,40 $\pm$ 0,21	0,00 $\pm$ 0,00	7,88 (2635,71) $\pm$ 0,16	15,45 $\pm$ 2,77
<b>V5 (AIN con LCHSi)</b>										
E11	9,03 $\pm$ 0,30	0,20 $\pm$ 0,13	2,44 (11,43) $\pm$ 0,14	1,88 $\pm$ 0,08	1,54 $\pm$ 0,07	21,95 $\pm$ 1,33	0,65 $\pm$ 0,15	0,15 $\pm$ 0,15 <sup>E13</sup>	-	-
E12	8,57 $\pm$ 0,32	0,70 $\pm$ 0,26	1,61 (4,98) $\pm$ 0,07	1,86 $\pm$ 0,06	1,57 $\pm$ 0,10	-	-	-	-	-
E13	8,23 $\pm$ 0,37	1,10 $\pm$ 0,46	1,76 (5,80) $\pm$ 0,12	1,85 $\pm$ 0,05	1,63 $\pm$ 0,09	21,72 $\pm$ 2,52	0,25 $\pm$ 0,15	3,25 $\pm$ 0,69	7,78 (2392,27) $\pm$ 0,15	16,80 $\pm$ 2,49
<b>V6 (AIN con LCHC)</b>										
E14	9,23 $\pm$ 0,24	0,40 $\pm$ 0,16	2,51 (12,31) $\pm$ 0,10	1,80 $\pm$ 0,06	1,53 $\pm$ 0,06	24,15 $\pm$ 1,35 <sup>E16</sup>	0,75 $\pm$ 0,26	0,10 $\pm$ 0,10	-	-
E15	8,84 $\pm$ 0,30	0,60 $\pm$ 0,27	1,88 (6,53) $\pm$ 0,08	1,82 $\pm$ 0,06 <sup>E16</sup>	1,56 $\pm$ 0,07 <sup>E16</sup>	-	-	-	-	-
E16	8,33 $\pm$ 0,31	1,20 $\pm$ 0,33	1,68 (5,34) $\pm$ 0,10	1,95 $\pm$ 0,08	1,71 $\pm$ 0,09	18,55 $\pm$ 1,46	0,40 $\pm$ 0,16	0,50 $\pm$ 0,24	7,81 (2457,75) $\pm$ 0,14	15,85 $\pm$ 3,02

V: visita; E: evaluación; ACA: ambiente controlado adverso; AIN: ambiente interior normal; LC: lente de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC lentes de contacto de hidrogel convencional; EVV: escala de valoración visual; SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco; NIBUT: test de ruptura lagrimal no invasivo. Los valores incluidos entre paréntesis en los resultados del NIBUT y de la lisozima lagrimal indican la media geométrica obtenida, se ha incluido para mejorar su comprensión)

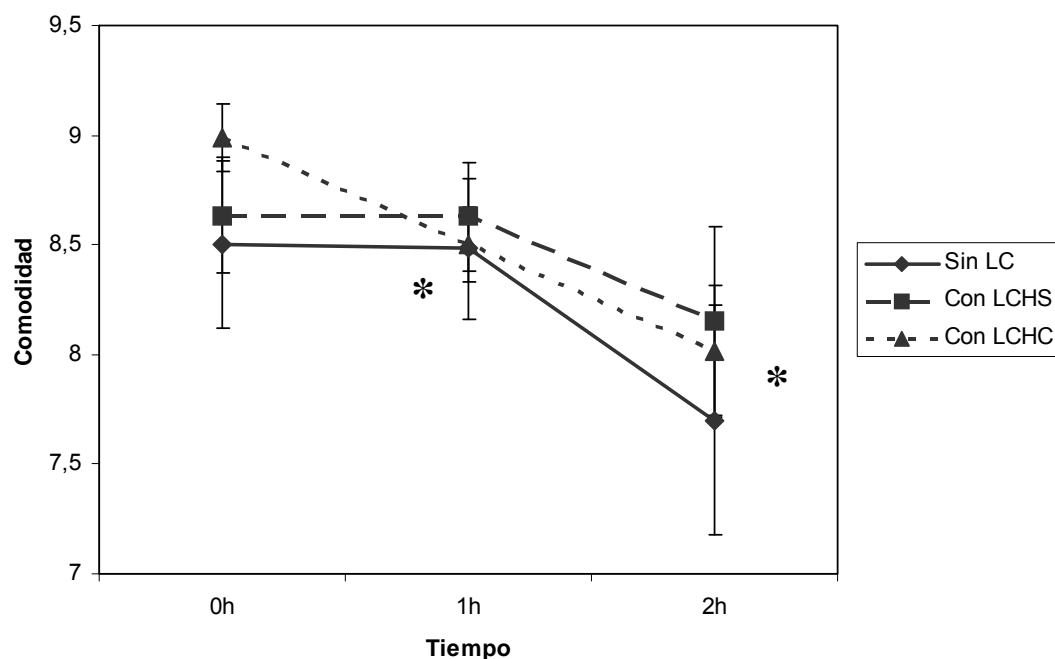
\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las diferentes evaluaciones. Las evaluaciones donde se han encontrado diferencias significativas están indicadas en superíndice.

† Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC en ACA (diferencias entre E2-E1 y E5-E4 para LCHSi y entre E2-E1 y E8-E7 para LCHC) o en AIN (diferencias entre E10-E9 y E13-E12 para LCHSi y entre E10-E9 y E16-E15 para LCHC).

‡ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas entre las dos LC estudiadas en ACA (diferencias entre E5-E4 y E8-E7) y en AIN (diferencias entre E13-E12 y E16-E15).

§ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas a corto plazo después de la exposición a ACA sin LC (E1-E6) o al AIN sin LC (E9-E14); o a largo plazo después de la exposición al ACA con LC (E7-E15). Las evaluaciones donde se han encontrado diferencias significativas están indicadas en superíndice.





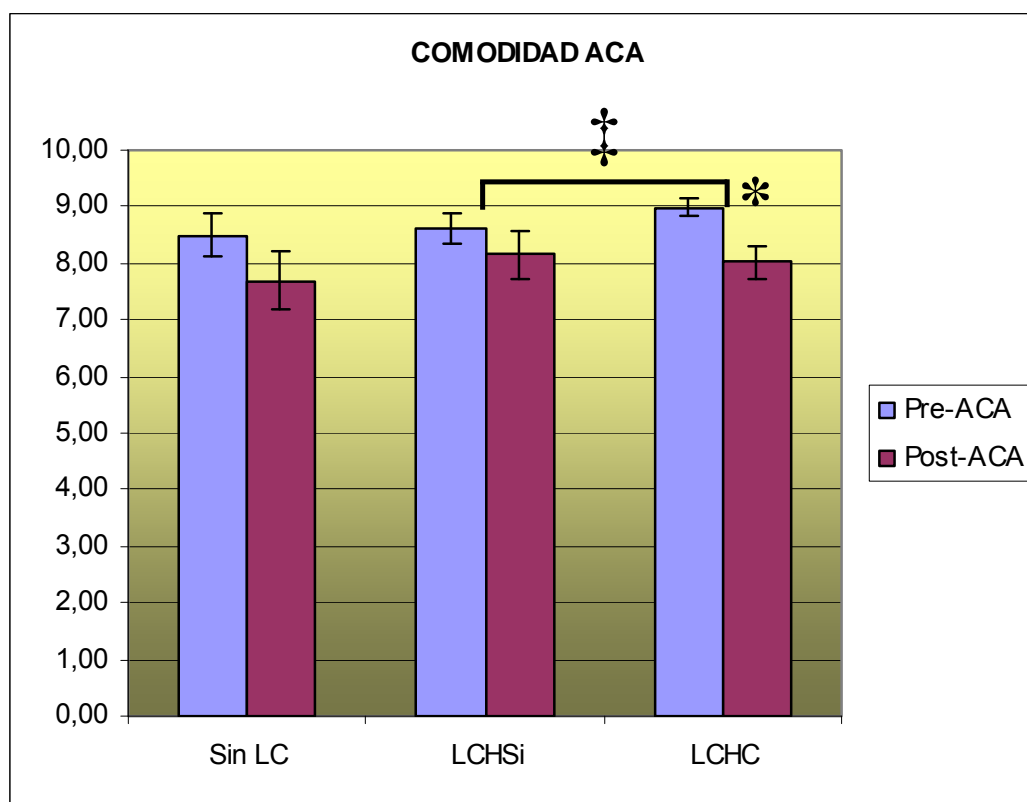
**Figura. 8:** Variación de la comodidad (EVV) en el ACA.

Se observó una reducción constante y significativa de la comodidad con las LCHC, no encontrándose cambios sin LC o con LCHSI.

\* Diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre 0 y 1 hora y entre 1 y 2 horas de exposición con LCHC.

LC: lentes de contacto; LCHSI: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto hidrofílicas convencionales; EVV: escala de valoración visual; ACA: ambiente controlado adverso.





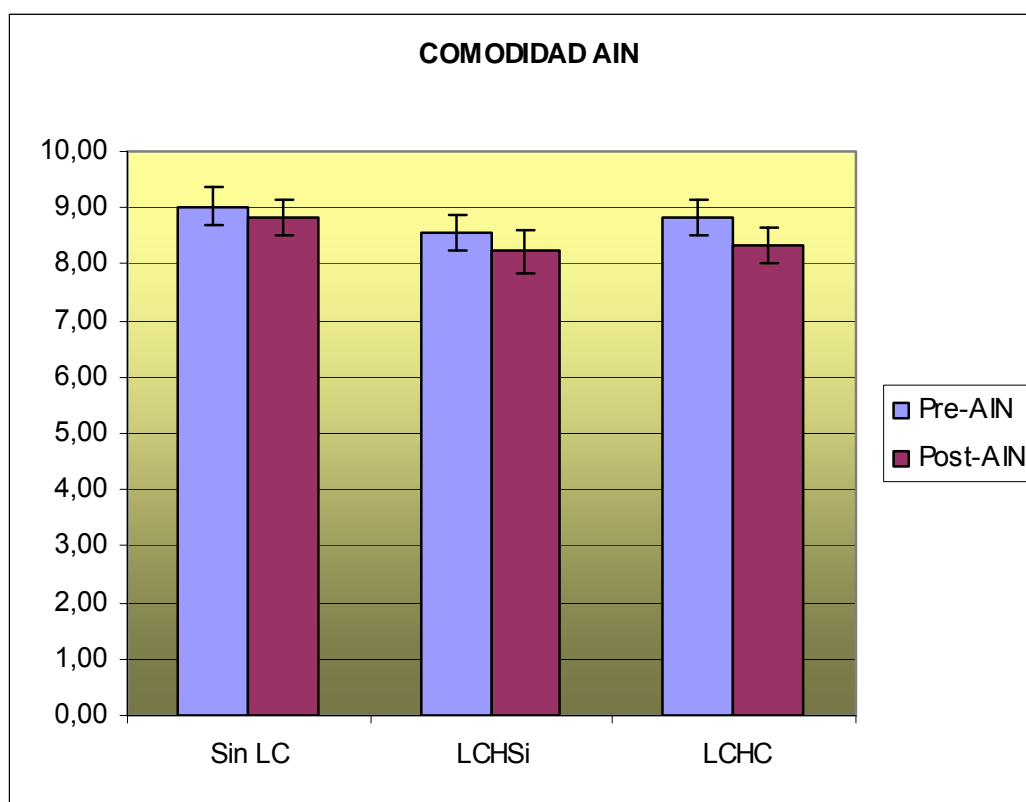
**Figura 9:** Comodidad (EVV) en ACA.

Se encontró una disminución significativa de la comodidad con las LCHC y una mayor comodidad con las LCHSi que con las LCHC tras dos horas de exposición al ACA.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. ‡ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas entre las dos LC estudiadas (diferencias entre E5-E4 y E8-E7).

EVV: escala de valoración visual; ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





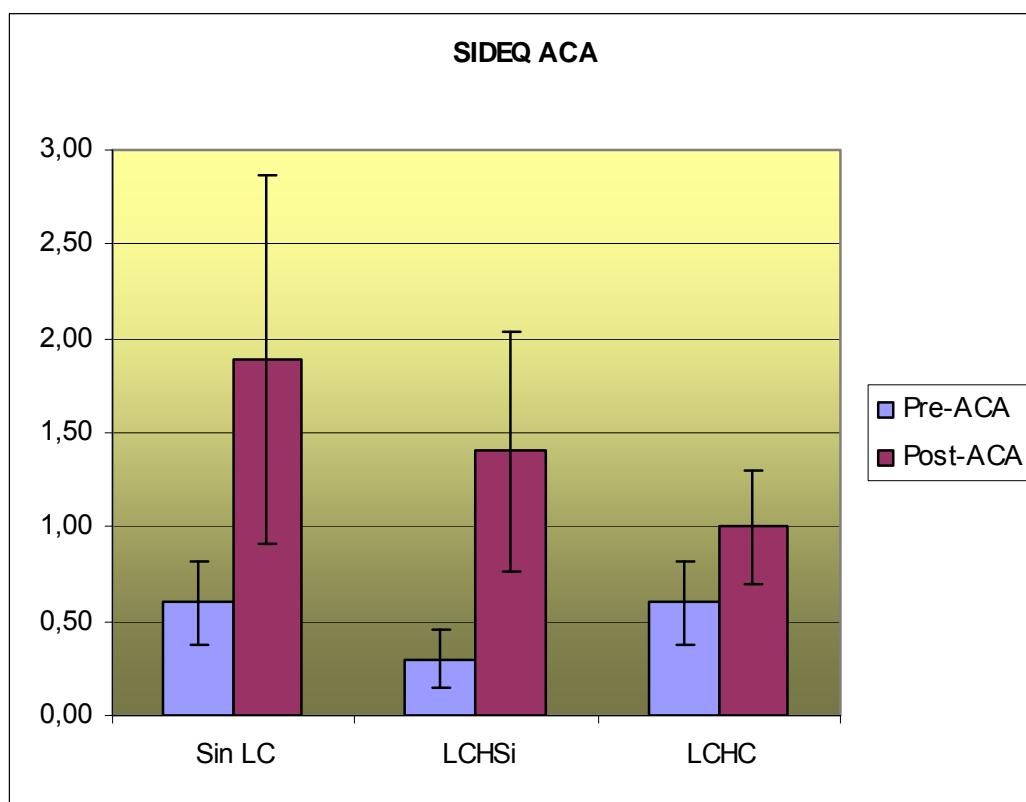
**Figura 10:** Comodidad (EVV) en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

EVV: escala de valoración visual; AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





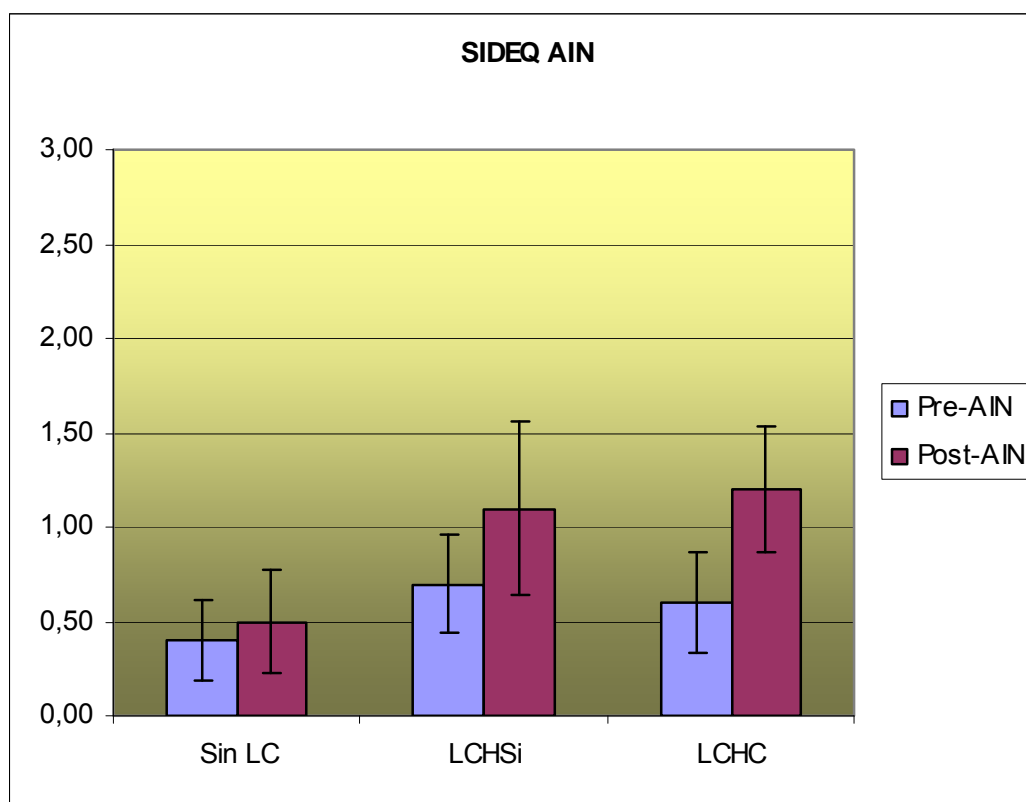


**Figura 11:** Sintomatología de ojo seco ACA.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

ACA: ambiente controlado adverso; SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.



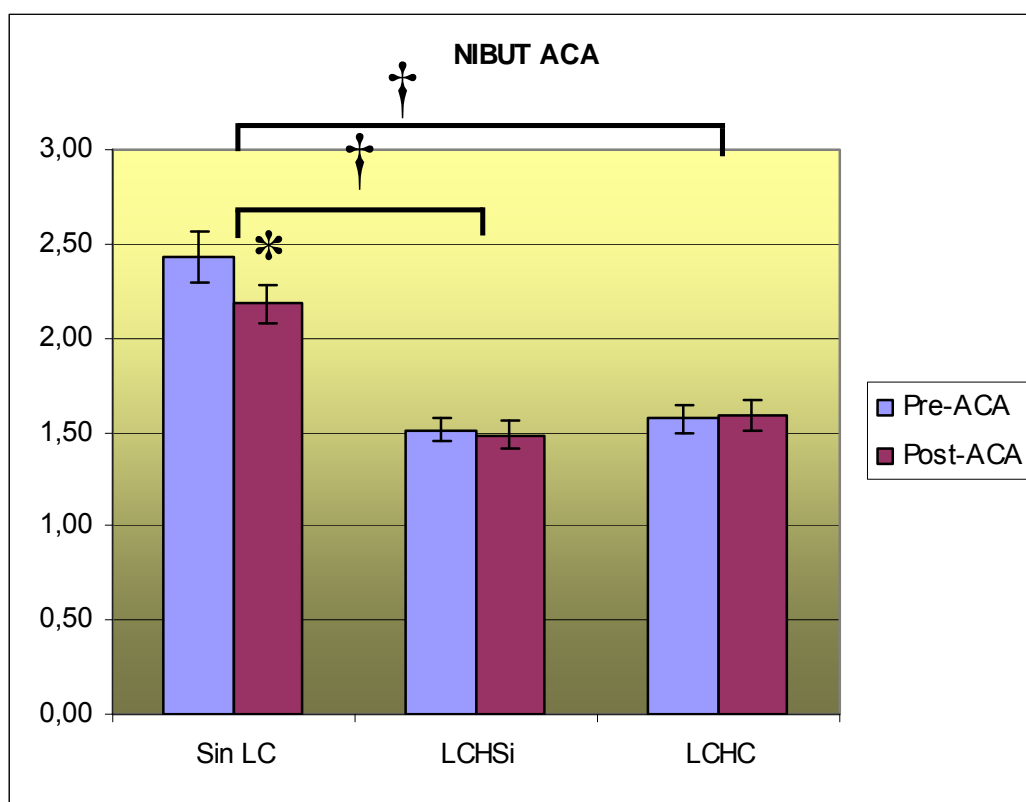


**Figura 12:** Sintomatología de ojo seco en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

SIDEQ: cuestionario de sintomatología de ojo seco; AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





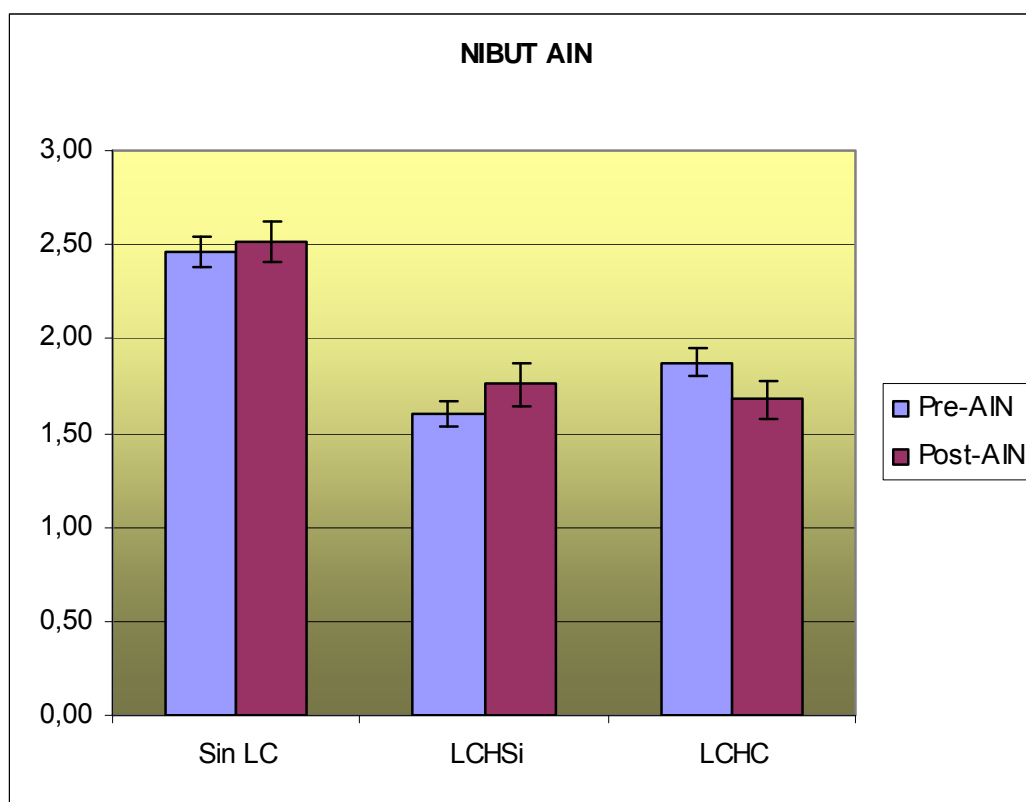
**Figura 13:** NIBUT en ACA.

Se encontró una disminución significativa en el NIBUT sin LC tras dos horas de exposición al ACA, reducción significativamente mayor que la encontrada para LCHSi o LCHC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. † Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC (diferencias entre E2-E1 y E5-E4 para LCHSi y entre E2-E1 y E8-E7 para LCHC)

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





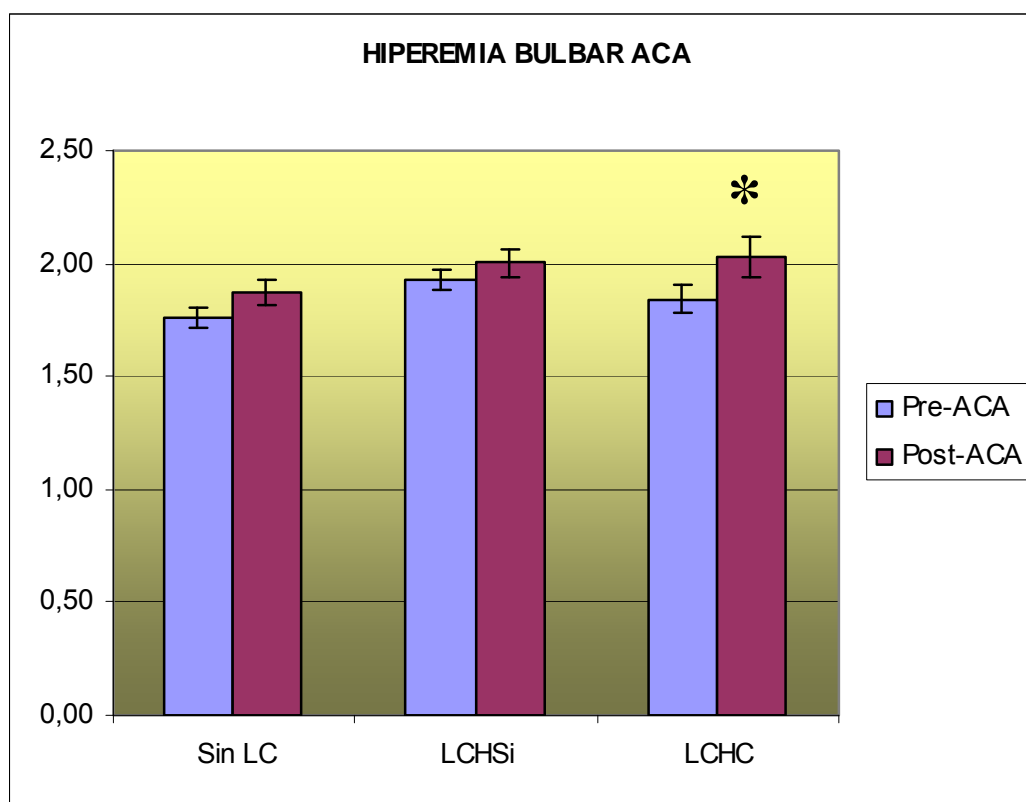
**Figura 14:** NIBUT en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.







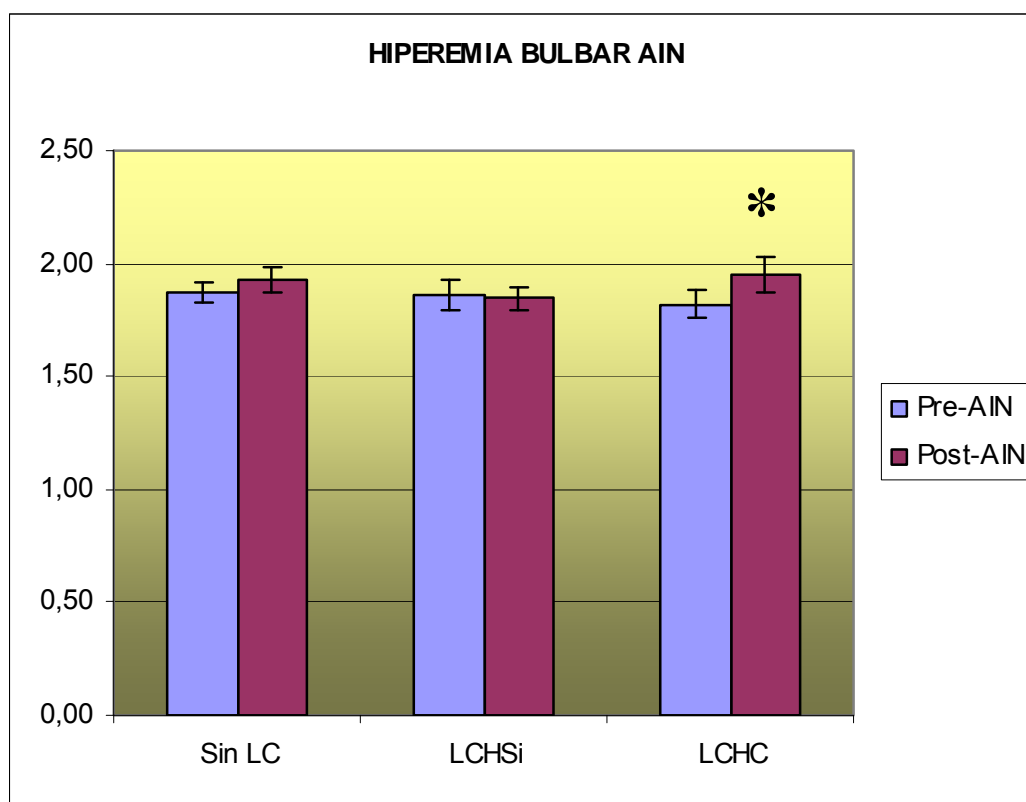
**Figura 15:** Hiperemia bulbar en ACA.

Se encontró un aumento significativo con LCHC, sin cambios sin LC o con LCHSi.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa.

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





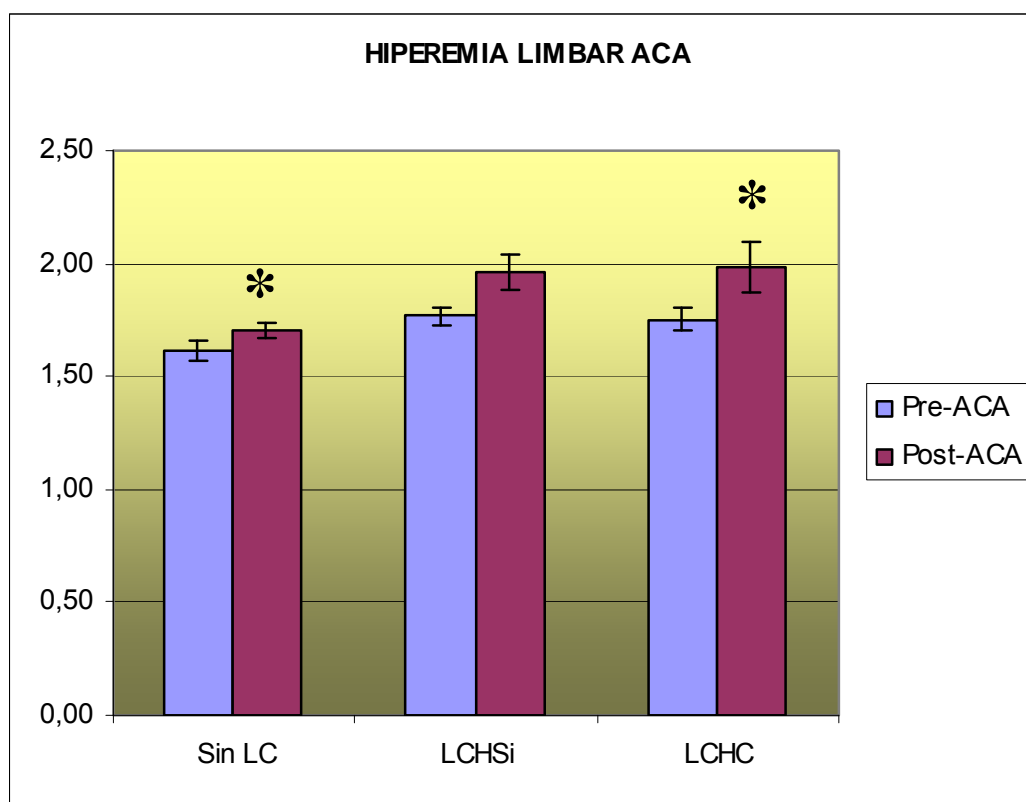
**Figura 16:** Hiperemia bulbar en AIN.

Se encontró un aumento significativo con LCHC, sin cambios sin LC o con LCHSi.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





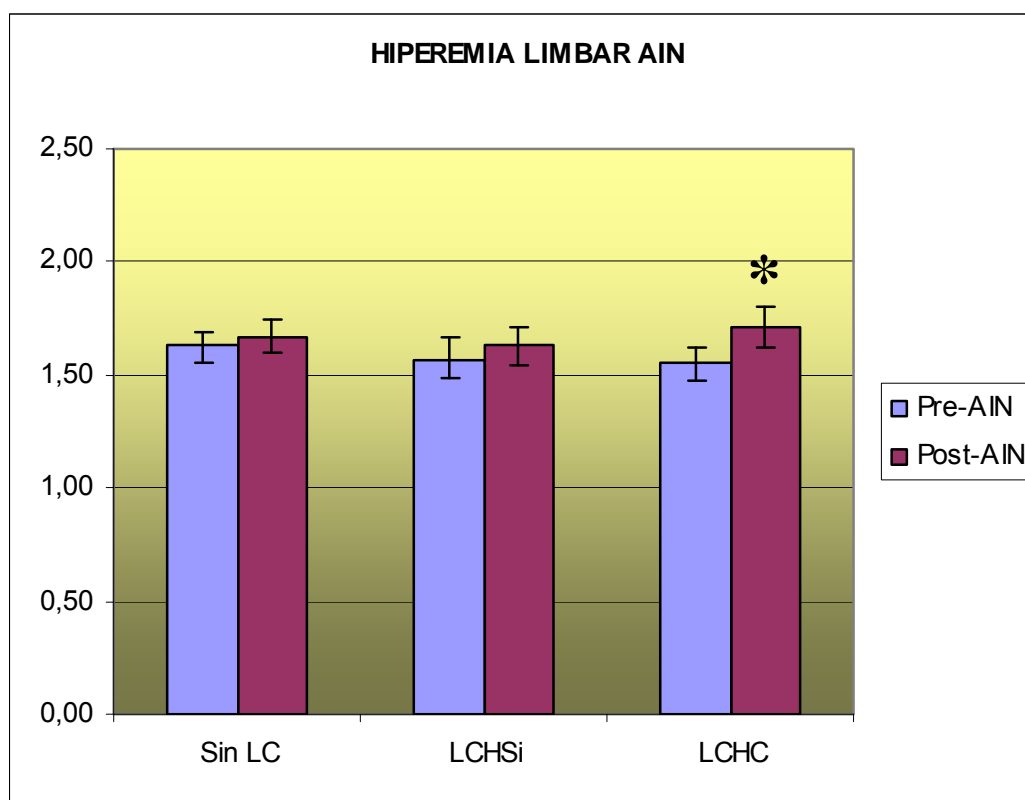
**Figura 17:** Hiperemia limbar en ACA.

Se encontró un aumento significativo de la hiperemia limbar sin LC y con LCHC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa.

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





**Figura 18:** Hiperemia limbar en AIN.

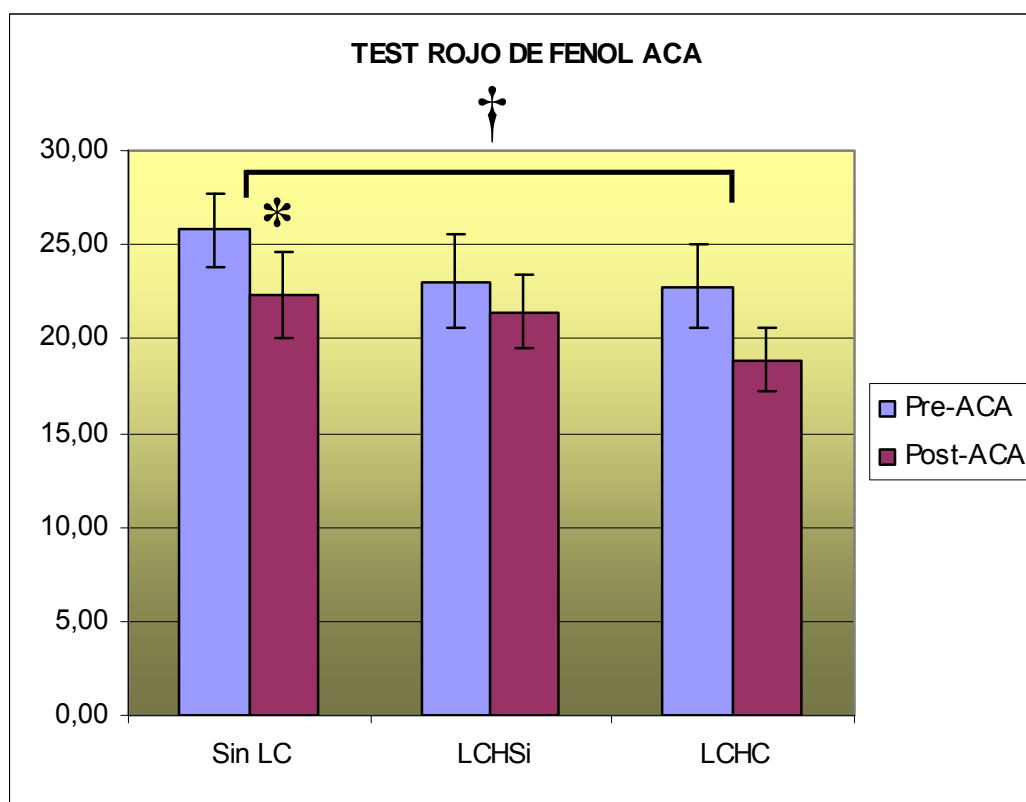
Se encontró un aumento significativo de la hiperemia limbar con LCHC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.







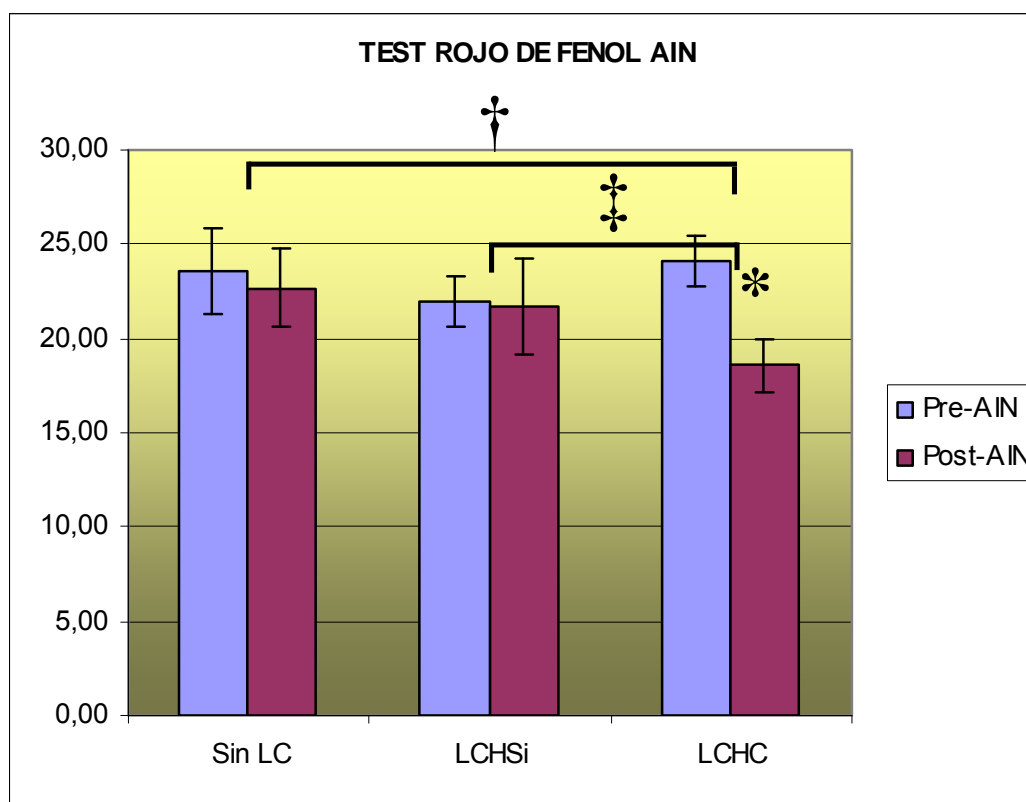
**Figura 19:** Test rojo de fenol en ACA.

Se encontró una disminución significativa de este test sin LC; con LCHC se produjo un mayor cambio que en las otras situaciones (sin LC o con LCHSi), siendo significativo con respecto al análisis sin LC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. † Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC (diferencias entre E2-E1 y E5-E4 para LCHSi y entre E2-E1 y E8-E7 para LCHC).

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





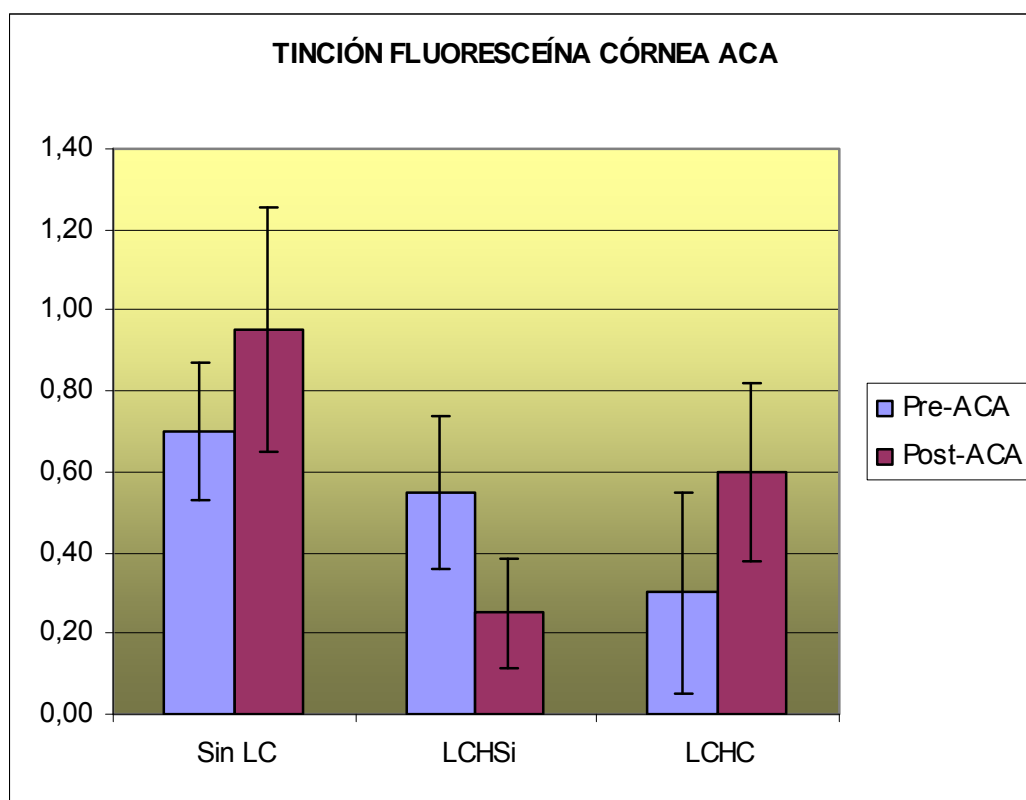
**Figura 20:** Test rojo de fenol en AIN.

Se encontró una disminución significativa de este test con LCHC tras 2 horas de exposición, además, con LCHC se observó un mayor cambio que en las otras situaciones (sin LC o con LCHSi).

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. † Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC (diferencias entre E10-E9 y E13-E12 para LCHSi y entre E10-E9 y E16-E15 para LCHC). ‡ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas entre las dos LC estudiadas (diferencias entre E13-E12 y E16-E15).

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.



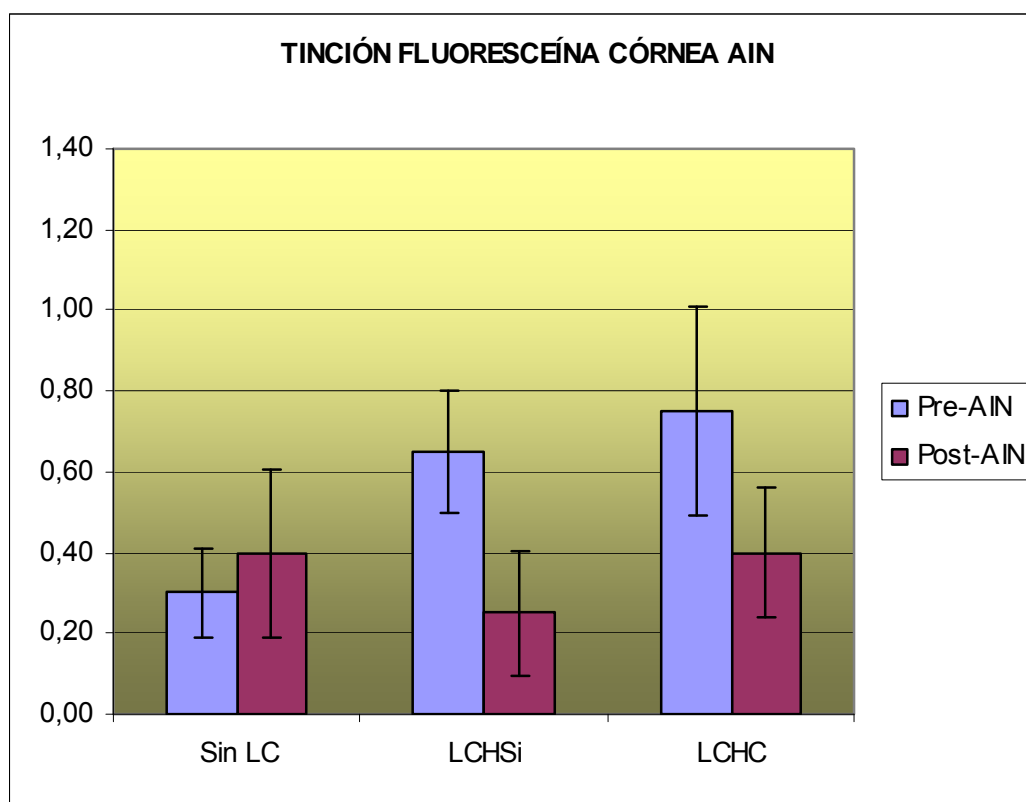


**Figura 21:** Tinción corneal con fluoresceína en ACA.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





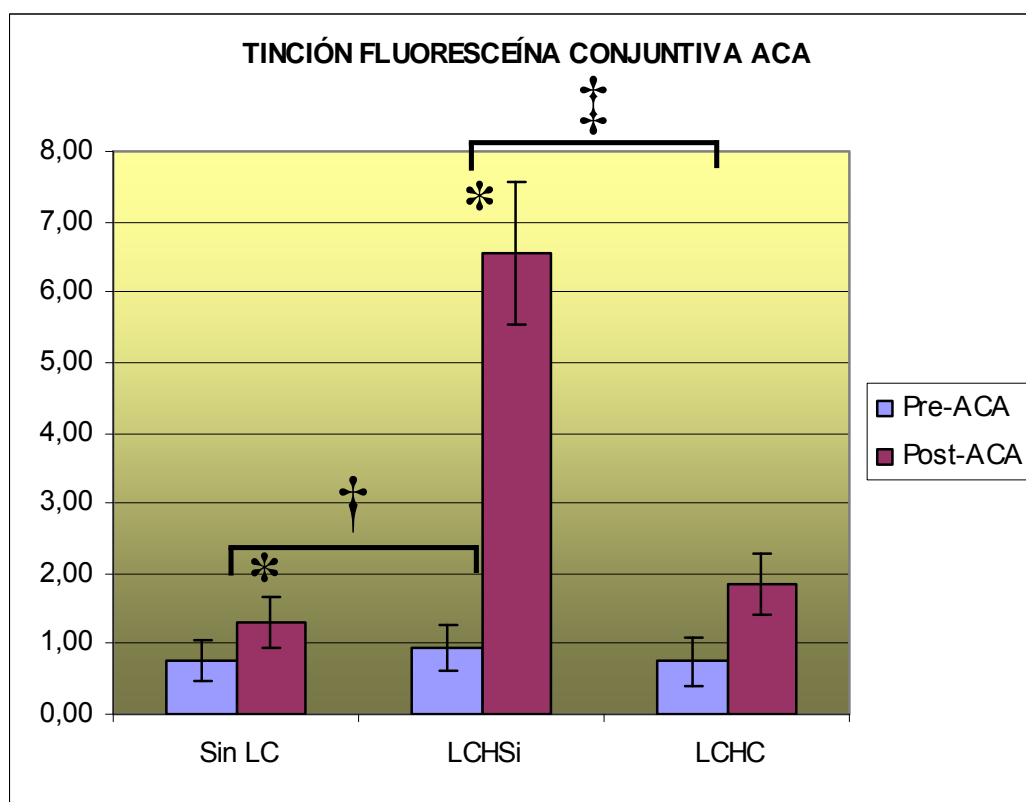
**Figura 22:** Tinción corneal con fluoresceína en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.







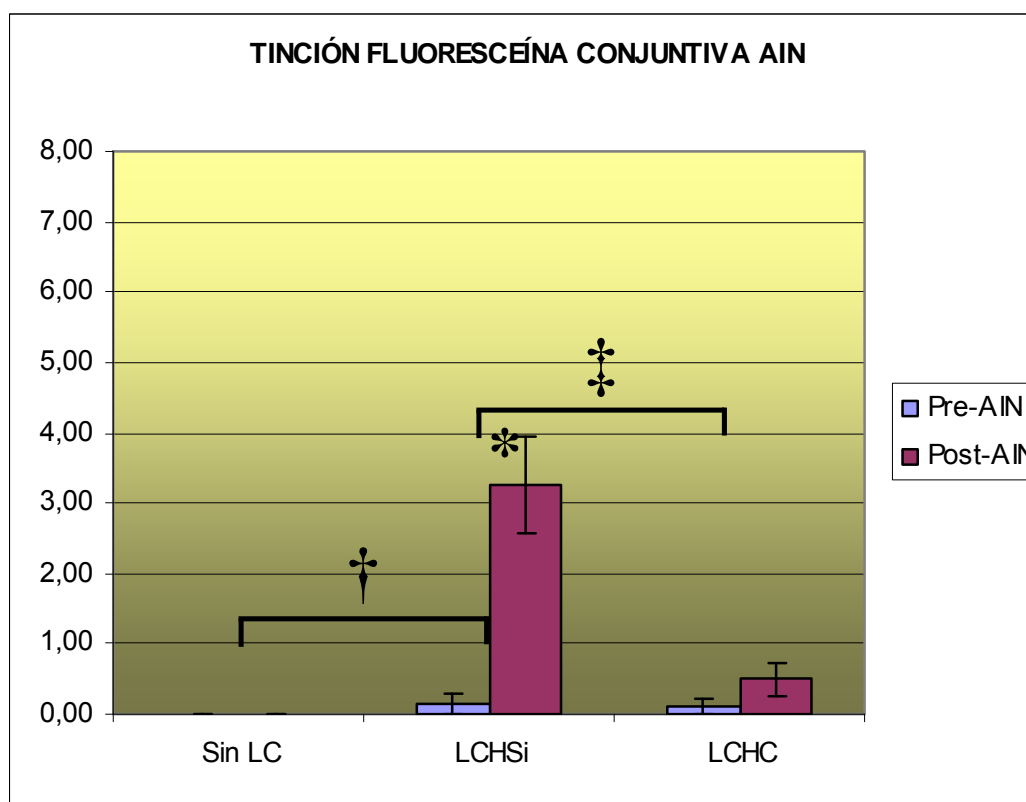
**Figura 23:** Tinción conjuntival con fluoresceína en ACA.

Se encontró un aumento significativo tras dos horas de exposición sin LC y con LCHSi. El aumento de la tinción con LCHSi fue significativamente mayor que el encontrado sin LC o con LCHC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. † Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC (diferencias entre E2-E1 y E5-E4 para LCHSi y entre E2-E1 y E8-E7 para LCHC). ‡ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas entre las dos LC estudiadas (diferencias entre E5-E4 y E8-E7).

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





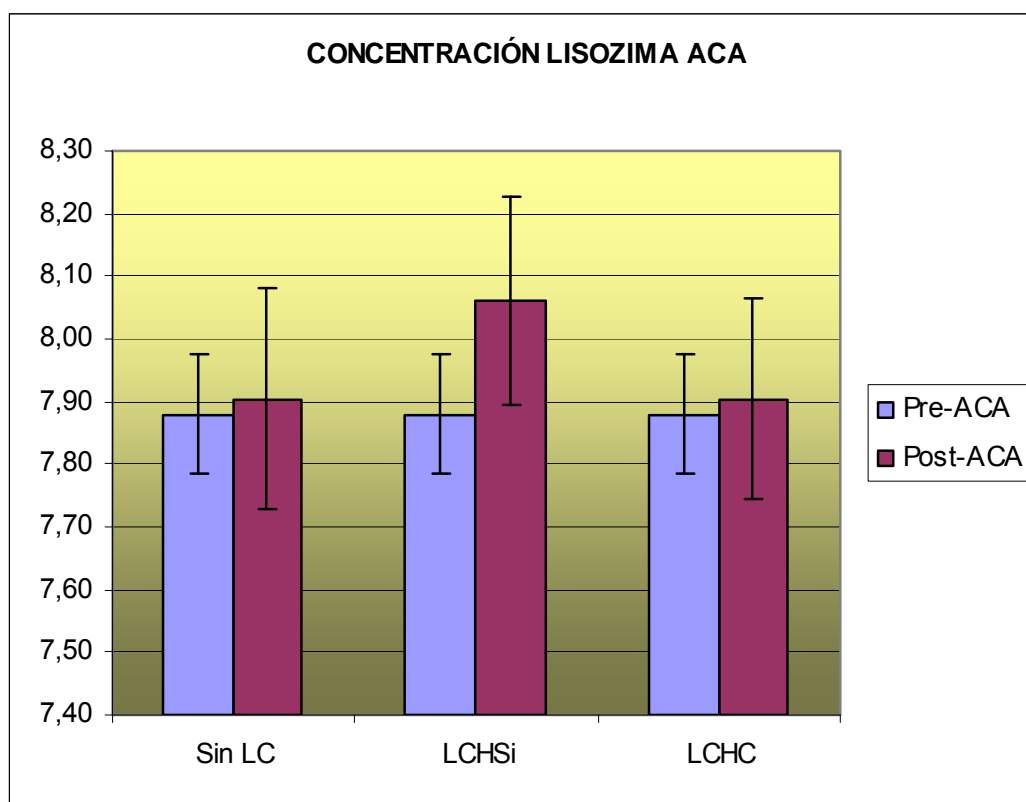
**Figura 24:** Tinción conjuntival con fluoresceína en AIN.

Se encontró un aumento significativo tras dos horas de exposición con LCHSi. El aumento de la tinción con LCHSi fue significativamente mayor que el encontrado sin LC o con LCHC.

\* Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la visita previa. † Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) producidas por el uso de LC (diferencias entre E10-E9 y E13-E12 para LCHSi y entre E10-E9 y E16-E15 para LCHC). ‡ Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas entre las dos LC estudiadas (diferencias entre E13-E12 y E16-E15).

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.



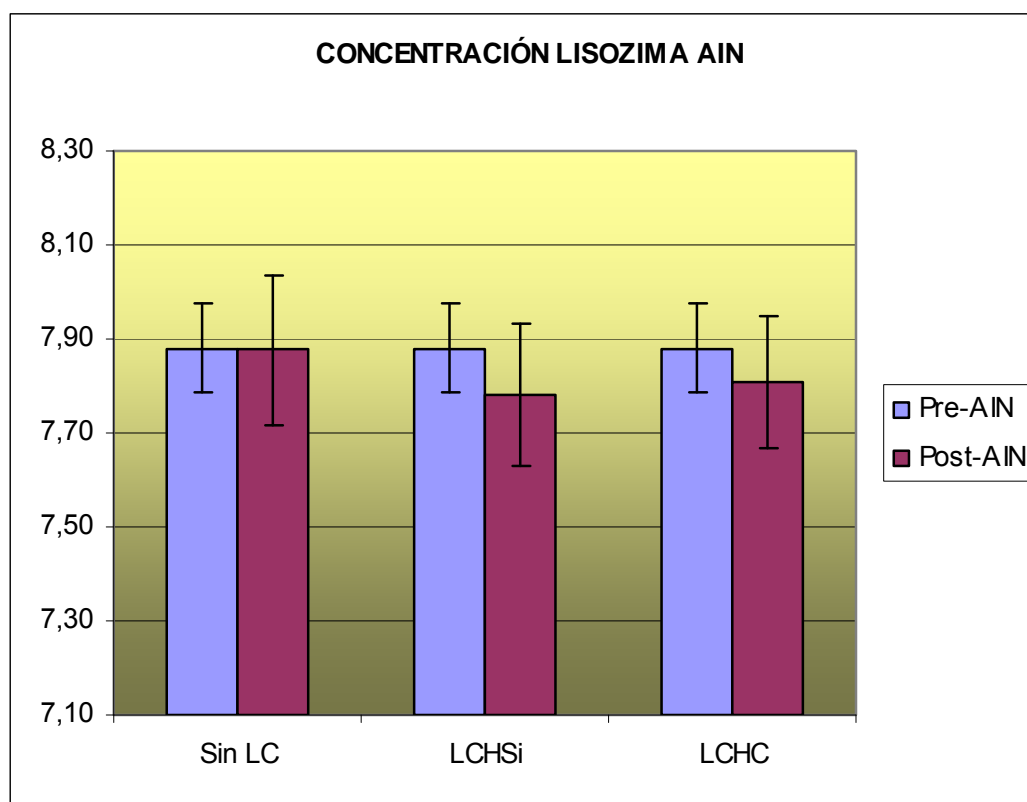


**Figura 25:** Concentración de lisozima en lágrima en ACA.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





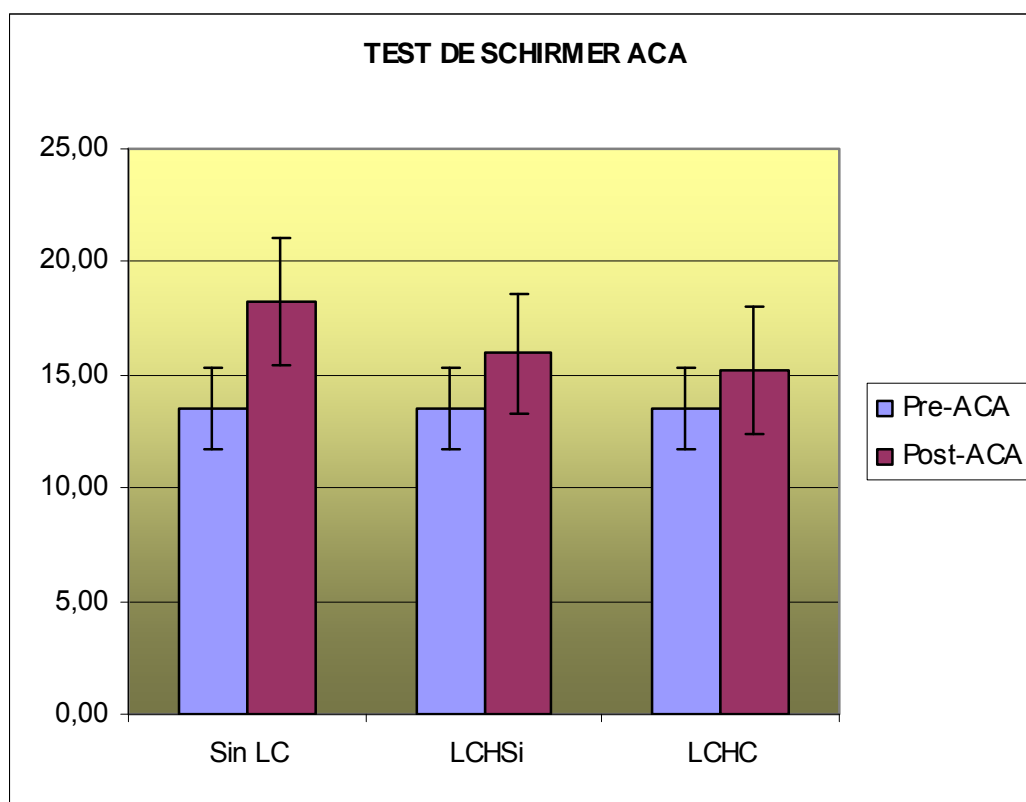
**Figura 26:** Concentración de lisozima en lágrima en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





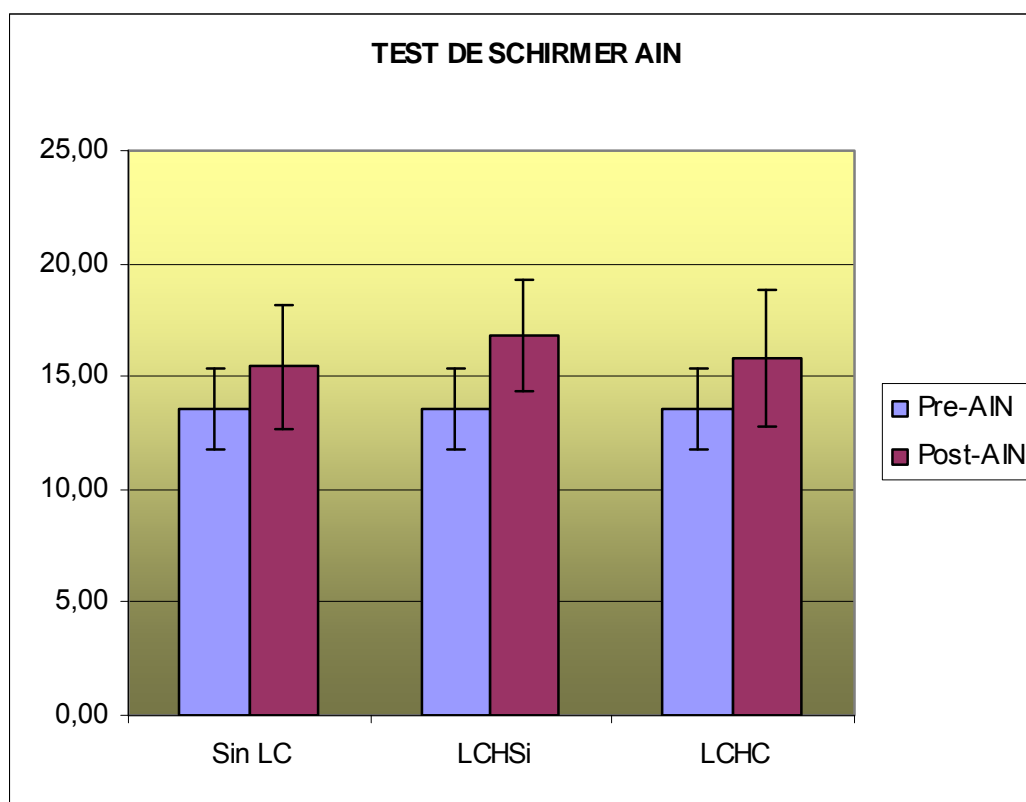


**Figura 27:** Test de Schirmer en ACA.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

ACA: ambiente controlado adverso; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.





**Figura 28:** Test de Schirmer en AIN.

No se encontraron cambios significativos entre visitas, ni producidas por el uso de LC, ni entre las LC.

AIN: ambiente interior normal; LC: lentes de contacto; LCHSi: lentes de contacto de hidrogel de silicona; LCHC: lentes de contacto de hidrogel convencional.



## ***VII. DISCUSIÓN***

---



## **VII.1. DE LA METODOLOGÍA**

### *VII.1.1. Grupo muestral*

El propósito de este estudio era determinar si diferencias en HR entre el ACA (20% HR) y el AIN (35% HR) podría afectar a la salud de la SO en individuos jóvenes y sanos con síntomas mínimos de SOS. Por este motivo, se descartaron sujetos que pudieran tener un SOS establecido, eligiendo únicamente sujetos con un SOS leve, consistente en presentar síntomas sólo durante el uso de LC. El test de Schirmer y la concentración de lisozima en lágrima fueron normales en todos los sujetos, lo que aseguró la ausencia de SOS hiposecretor. Entre los sujetos de este estudio, no se encontró daño en la SO y sólo un ojo demostró tener tinción corneal positiva leve y 3 mostraron tinción conjuntival leve (grado 1).

Uno de los criterios de inclusión de este estudio fue que los sujetos tuvieran un bajo grado de miopía y/o astigmatismo. Esto se hizo para evitar diferencias en el diseño de las LC que pudieran afectar a la evaporación de la PL durante su uso.<sup>224</sup>

Ya que era importante evaluar el efecto del ACA y del AIN en la SO sin y durante el uso de LCH, y al igual que en otros estudios,<sup>31, 32</sup> se seleccionaron usuarios habituales de LC para evitar cualquier signo o síntoma secundario a la adaptación a las LC en usuarios neófitos. La inclusión de sujetos ligeramente sintomáticos, principalmente con síntomas de sequedad durante el uso de LC, tenía además la intención adicional de asegurar que los sujetos estuvieran entrenados en la tarea de interpretar su sintomatología de SOS; sin embargo se aseguró que los sujetos fueran completamente asintomáticos mientras permanecieran sin sus LC.

Los sujetos de este estudio fueron usuarios típicos de LC, en los que la sintomatología de SOS es muy común, encontrándose en porcentajes tan altos como el 76,8%,<sup>9</sup> siendo la sequedad el síntoma más frecuentemente referido.<sup>225</sup> Los síntomas que refirieron los sujetos fueron mínimos (rara vez o alguna vez) y el síntoma más referido después de la sequedad fue el de sensación de

cuerpo extraño. Los menos referidos fueron los de dolor y visión borrosa, resultado que se esperaba ya que estos síntomas se expresan de forma más común en el SOS establecido.<sup>226, 227</sup>

### *VII.1.2. Condiciones ambientales del estudio*

Para exponer a los sujetos a un AIN se seleccionaron 2 horas de actividad visual (lectura) en una sala de lectura de una biblioteca, ya que era un ambiente real para la población de referencia de este estudio (estudiantes universitarios). Las medidas de  $T^a$  y HR obtenidas en la sala de la biblioteca estuvieron dentro o cerca del rango recomendado para las condiciones de trabajo en oficina en muchos países: Japón ( $T^a$ : 17-28°C, HR: 40-70%),<sup>228</sup> Canadá ( $T^a$ : 20-24°C, HR: 40-60%),<sup>3</sup> EEUU ( $T^a$ : 21-28°C, HR: 30-70%),<sup>4</sup> y España ( $T^a$ : 17-27°C, HR: 30-70%) (Real Decreto 486/1997, BOE 23 abril, páginas: 12918-12926).

Para las condiciones de ACA, se seleccionó un 20% de HR porque el propósito era el de simular un ambiente con baja HR al que los sujetos pudieran estar expuestos en su vida normal. En el mundo existen muchos lugares habitados con climas desérticos o semi-desérticos donde es común llegar a valores de exposición de HR del 25-35%, bajando del 20% durante las estaciones secas (como se muestra en la base de datos <http://www.weatherbase.com>). Por ejemplo, la HR de la ciudad donde se llevó a cabo este experimento (Valladolid, España) está entre 12-25% durante la temporada más seca (verano).<sup>229</sup> Para interiores, son comunes los valores bajos de HR en edificios de oficinas y vuelos comerciales,<sup>4, 12, 88</sup> y estos ambientes están habitualmente asociados con síntomas de sequedad, picor e irritación ocular.<sup>3, 76, 88, 230</sup>

En este estudio se ha evaluado la influencia que las variaciones en HR pueden tener en la SO de los humanos, manteniendo prácticamente constantes otras variables que pueden influir en los resultados, tales como la  $T^a$ , el flujo de aire o la tarea visual a realizar. Aunque la relación no es exactamente lineal, los niveles de HR varían inversamente con la  $T^a$  <sup>231</sup> cuando el vapor de agua se mantiene constante. Se ha analizado la influencia de una HR de un 20% como ACA y de un



34,8% de HR como AIN mientras se mantenía una  $T^a$  similar, 22,0°C para el ACA y 24,2°C para el AIN. Por este motivo, los resultados se pueden atribuir principalmente a las diferencias en HR. Morgan y cols.<sup>32</sup> no encontraron cambios en la deshidratación de LCH o en la comodidad en sujetos expuestos a diferentes niveles de  $T^a$  y HR. Sin embargo, ellos utilizaron bajos niveles de HR junto con elevadas temperaturas (5% de HR a 30°C) y altos niveles de HR con bajas temperaturas (90% de HR a 5°C), por lo que sus condiciones no son comparables a las de este trabajo. Maruyama y cols.<sup>31</sup> por otro lado, utilizaron bajos niveles de HR para bajas  $T^a$  y HR elevadas para altas  $T^a$  (10% HR a 5°C y 50% HR a 35°C). Cambiando dos variables simultáneamente no queda claro, lógicamente, el efecto de los cambios de la HR de forma aislada. Sin embargo, los cambios que encontraron en el NIBUT, los patrones interferenciales y los síntomas de sequedad apoyan los resultados obtenidos en el presente estudio de que valores bajos de HR incrementan los signos y síntomas de SOS.<sup>31</sup>

En el presente estudio y en otros realizados previamente de las mismas características,<sup>31, 32, 184</sup> las evaluaciones de los sujetos antes y después de la exposición ambiental fueron tomadas fuera de la CAC. Aunque el tiempo que transcurrió en este estudio entre la exposición ambiental y la última medida fue de menos de 10 minutos, es preferible tomar las medidas dentro de la CAC. Actualmente se está mejorando el diseño de la CAC construyendo una cámara de examen dentro de la CAC, para que el sujeto se encuentre siempre bajo las mismas condiciones ambientales y así resolver este problema en futuras investigaciones.

## **VII.2. DE LOS RESULTADOS**

La respuesta subjetiva de los individuos del estudio se evaluó de dos formas: con la EVV para analizar la comodidad y el SIDEQ para evaluar los síntomas. No se encontró ningún cambio ni en sintomatología ni en comodidad sin LC o con LCHSi en ninguno de los dos ambientes (ACA y

AIN); sin embargo hubo una disminución significativa de la comodidad con LCHC bajo condiciones ACA.

Estos resultados pueden explicarse de dos maneras. La primera explicación es que probablemente ambos tests evalúen partes diferentes de la respuesta subjetiva, ya que los sujetos pueden interpretar palabras como “comodidad” o “sequedad” como sensaciones diferentes, incluso puede que la sequedad sea sólo una parte de sensación de comodidad o incomodidad que pueda sentir un individuo. La segunda explicación es que ambas se evaluaron de forma diferente. La comodidad se midió a través de una EVV de 0 a 10, más precisa a la hora de evaluar pequeños cambios de la respuesta subjetiva que la escala verbal utilizada para el SIDEQ (de 0 a 4).<sup>232-234</sup>

El hecho de que no hubiera una disminución significativa en la comodidad después de 2 horas de exposición al ACA sin LC o con LCHSi puede indicar que, para encontrar diferencias, los estudios futuros en estas condiciones tendrán que ser más largos o los cambios en HR más extremos. Sin embargo, la comodidad con LCHC disminuyó desde la primera hora de forma significativa, indicando que esta variable se ve más afectada por el uso de este tipo de LC.

Comparando los cambios encontrados para cada variable entre las dos LC, se ha observado una mayor disminución de la comodidad en el ACA con las LCHC que con las LCHSi. Estos resultados, están en la misma línea que los encontrados en otros estudios. Young y cols.<sup>187</sup> analizaron la comodidad del porte de LCHC en diferentes condiciones, como lectura, aire acondicionado, uso de ordenadores, aviones... y encontró mejoría cuando se readaptaba a los sujetos con LCHSi. Estos resultados son similares a los encontrados por Riley y cols.,<sup>18</sup> Dumbleton y cols.,<sup>235</sup> Long y McNally<sup>236</sup> y Dillehay y Millar,<sup>237</sup> en la modalidad de uso diario y por Brennan y cols.,<sup>238</sup> Chalmers y cols.,<sup>19</sup> y Schafer y cols.,<sup>239</sup> para la modalidad de uso prolongado. Sin embargo, hay discrepancias con otros resultados publicados. Fonn y Dumbleton<sup>21</sup> no encontraron diferencias en la comodidad entre LCHC y LCHSi, esta discrepancia puede ser

explicada por el hecho de que este estudio analizó el cambio de la comodidad después de 7 horas de uso, mientras que el resto de los estudios han sido realizados a más largo plazo. Actualmente, se desconoce el motivo por el que la comodidad es mayor con LCHSi, apuntándose entre otras posibilidades la de que las LCHSi aportan más oxígeno a la córnea que las LCHC. Se sabe que bajos niveles de oxígeno (tanto con, como sin LC) disminuyen la comodidad ocular.<sup>240-244</sup>

En definitiva, la exposición de individuos con diferentes tipos de LC ha permitido distinguir que tipo de LC es mejor tolerada, lo cual tiene evidentes aplicaciones futuras.

El NIBUT se realizó para evaluar la estabilidad de la PL en vez del T-BUT utilizado en la visita de inclusión, ya que permite evaluar el comportamiento de la PL en la superficie de la LC. El Tearscope es el método más repetible de todos los que existen para medir el NIBUT,<sup>245</sup> y con un punto de corte de 10 segundos tiene una sensibilidad de un 82% y una especificidad de un 86%.<sup>211</sup>

Sin LC, la estabilidad de la PL se vio afectada negativamente después de 2 horas de exposición en ACA, resultados similares a los obtenidos por otros autores.<sup>2, 89, 246</sup> Sin embargo, Maruyama y cols.,<sup>31</sup> no observaron ningún cambio en el NIBUT sin LC cuando los sujetos fueron expuestos a ACA durante 15 minutos. La corta duración de la exposición probablemente explique la diferencia entre sus resultados y los obtenidos en este estudio.

En este estudio, el NIBUT no se vio alterado cuando las LC estaban puestas, existiendo además una diferencia significativa entre la disminución producida sin LC y el cambio originado por el uso de LCHSi o LCHC. Esto podría explicarse por el hecho de que la LC estaría protegiendo la córnea de cambios externos durante un corto periodo de tiempo. Nilsson y Andersson<sup>14</sup> hallaron una disminución en el T-BUT en trabajadores usuarios de LC cuando la HR estaba por debajo el 31% en sus lugares de trabajo y para tiempos de exposición mayores de 2 horas. Siguiendo en esta línea, Maruyama y cols.<sup>31</sup> encontraron una disminución en el NIBUT cuando los sujetos

fueron expuestos a valores de baja HR cuando las LC estaban puestas. Es necesario aclarar esta discrepancia con más estudios en este área.

Un hallazgo interesante fue el incremento de la hiperemia limbar y de la tinción conjuntival con fluoresceína después de la exposición al ACA sin LC, indicando que la SO se alteró por la exposición a estas condiciones adversas. Con LCHSi, no se encontró ninguna diferencia significativa ni en ACA ni en AIN para estos parámetros; sin embargo con LCHC, tanto el ACA como el AIN indujeron un aumento de la hiperemia bulbar y limbar. Otros autores también han encontrado aumento de la hiperemia limbar<sup>247, 248</sup> con el uso de este tipo de LC, y ha sido atribuido a la hipoxia local en la zona limbar, que puede estar producida por la presencia del borde de la LC.

Es sabido que la hiperemia limbar se reduce por el cambio de LCHC a LCHSi, tanto en uso diario<sup>18, 235-237, 249</sup> como en uso prolongado,<sup>19, 238</sup> lo que puede explicar la diferencia encontrada entre las dos LC estudiadas. En esta misma línea, la diferencia se explica por la mayor transmisibilidad al oxígeno que tienen las LCHSi con respecto a las LCHC, reduciendo así el efecto de hipoxia local que puede tener el borde de la LC sobre el limbo.<sup>235</sup>

Con el porte de LCHSi se encontró un aumento de la tinción conjuntival tanto en el ACA como en el AIN, siendo este incremento significativo para los dos ambientes con respecto al encontrado tanto sin LC como con LCHC. Estos resultados están en concordancia con los encontrados por otros autores, existiendo varios motivos que puedan explicarlo, como el mayor módulo de rigidez de estas LC, un aumento consecuente del movimiento con el parpadeo o el cambio de las características de la PL en el borde de la lente.<sup>249</sup>

En este trabajo se realizaron 3 pruebas para evaluar la producción de la PL: el test de Schirmer, el test de rojo de fenol y la concentración de lisozima lagrimal. A pesar de que no existe un acuerdo sobre el uso de anestesia tópica o el punto de corte del test de Schirmer, es considerado como el “gold standard” para la evaluación de la cantidad de lágrima.<sup>250</sup> En la

práctica clínica del IOBA, se utiliza el test de Schirmer con anestesia de forma rutinaria para el diagnóstico del SOS, utilizando un punto de corte de 5 mm.<sup>42</sup> Aunque se ha encontrado una baja correlación entre el test de Schirmer y el de rojo de fenol para diagnosticar el SOS,<sup>251</sup> el rojo de fenol es un test simple, rápido y reproducible.<sup>252</sup> Para algunos autores, tiene mayor especificidad para el diagnóstico del SOS que el test de Schirmer (Chiang B, et al. *IOVS* 1988; 29:ARVO Abstract 26, p. 337). Se considera un valor de 20 mm de humectación de la tira en 15 segundos como un buen punto de corte para detectar SOS hiposecretores.<sup>214</sup>

La medida de la concentración de la lisozima lagrimal no está recomendada por algunos autores por ser una técnica compleja y cara.<sup>40</sup> Sin embargo, en el Área Clínica del IOBA se realiza de forma rutinaria ya que, siendo un test fiable y sensible para la evaluación de la secreción lagrimal, se ha modificado para que su aplicación sea fácil y rápida.<sup>253</sup> Aunque no existe un punto de corte establecido para el diagnóstico del SOS, sin embargo, en la mayoría de la literatura revisada, los valores de concentración de lisozima lagrimal en sujetos con SOS están por debajo de los 1000 µg/ml,<sup>42, 206, 207, 254-256</sup> valor seleccionado como criterio de corte para este test.

A pesar de que el test de Schirmer y la concentración de lisozima lagrimal son buenos tests para evaluar la producción lagrimal, no se encontró ninguna variación con la exposición a ACA o AIN. Probablemente el tiempo de exposición fuera demasiado corto para mostrar cambios en sujetos prácticamente normales, sin embargo, hay inconsistencia en los resultados publicados en la literatura en relación a las variaciones del test de Schirmer en ambientes adversos. Paschides y cols.<sup>246</sup> encontraron una disminución en los resultados del test de Schirmer sin anestesia en sujetos que habitaban en ciudades con ambientes secos con respecto a aquellas con ambientes más húmedos. Sin embargo, Muzi y cols.<sup>2</sup> no encontraron ninguna diferencia en el test de Schirmer sin anestesia en sujetos que trabajaban en edificios con el “síndrome del edificio enfermo” comparados con aquellos sujetos que trabajaban en edificios con “ambiente saludable”, definiendo “síndrome del edificio enfermo” como el aumento de signos y síntomas de irritación

que padecen los habitantes de ciertos edificios acondicionados de forma artificial y que afectan al ojo y al sistema respiratorio.

Otro motivo que podría explicar los resultados encontrados en este estudio es que se evaluaron sujetos con SO prácticamente normales ya que los sujetos con SOS pueden verse más afectados por el ACA, como otros autores han concluido;<sup>30</sup> y que se utilizó anestesia en la realización del test de Schirmer, lo que uniformiza más los resultados.

El test del rojo de fenol ha sido el único test de medida de la producción lagrimal que ha cambiado después de la exposición ambiental, ya que disminuyó en el ACA sin LC pero no en el AIN. Esta diferencia con respecto a las otras dos pruebas de producción lagrimal puede ser debida a que es menos invasivo<sup>213</sup> y por lo tanto puede detectar cambios más sutiles. Con LCHC, el test del rojo de fenol disminuyó en el AIN, indicando que, de alguna manera, la presencia de este tipo de LC puede alterar la producción lagrimal de la misma forma que lo hace el ACA, no encontrando ninguna diferencia significativa con las LCHSi.

También se encontró una mayor disminución en los valores del test de rojo de fenol con LCHC cuando se comparaba con la variación encontrada sin LC, tanto en ACA como en AIN, y al compararla con la variación encontrada con LCHSi en AIN. Este hallazgo puede indicar que el volumen de lágrima en el ojo puede estar reducido cuando hay una LCHC, debido a un aumento de la evaporación de la PL por la presencia de la propia LC.

En general, se encontró que el ACA afecta más negativamente a una SO prácticamente normal que el AIN. McCulley y cols.<sup>102</sup> encontraron que una disminución en la HR resulta en un aumento de la evaporación lagrimal. La baja HR a la que los sujetos fueron expuestos durante el ACA en este estudio, podría haber provocado un aumento en la evaporación lagrimal produciendo los cambios en signos y síntomas que se han observado. Aunque esta hipótesis parece probable en las condiciones experimentales de este trabajo, sin embargo no se ha podido medir la evaporación lagrimal, por lo que no se puede comprobar su veracidad.

Las condiciones de ACA parecen haber afectado más negativamente a la SO cuando no se estaban utilizando LC que cuando la LC se encontraba en el ojo. Además, salvo en un parámetro (comodidad para ACA con LCHC) la respuesta de la SO ha sido similar en los dos ambientes evaluados para cada una de las dos LC estudiadas (las variaciones encontradas en ACA también se produjeron en AIN). Estos resultados se pueden explicar por el hecho de que los individuos seleccionados para este estudio eran sintomáticos únicamente cuando estaban utilizando LC, luego era de esperar que tuvieran síntomas ya en ambiente normal. La presencia de una LC produce cambios en la SO que provocan estas variaciones incluso en situaciones normales, ya que hace que aumente la evaporación,<sup>257</sup> enmascarando el efecto que 2 horas de exposición a un ACA podría tener en la SO.

Con respecto a las diferencias encontradas entre las dos LC evaluadas, hay estudios que corroboran una mayor deshidratación de las LCHC cuando se compara con las LCHSi, tanto in vitro<sup>258, 259</sup> como in vivo.<sup>260</sup> Los resultados obtenidos en este estudio al comparar las dos LC parecen ir en este sentido, ya que se ha encontrado un aumento de la sintomatología en ACA y una disminución del test de rojo de fenol en AIN con LCHC con respecto a las LCHSi, indicando que las LCHC, al deshidratarse más, provocan mayores signos y síntomas de SOS que las LCHSi. Esto puede explicar el hecho de que hubiera más sujetos que prefirieran el uso de la LCHSi frente a una LCHC, resultados similares a los encontrados por Dillehay y Miller.<sup>237</sup>

El pequeño cambio encontrado en alguna de las variables estudiadas (por ejemplo en la hiperemia bulbar y limbar), aunque estadísticamente significativo, parece tener poca relevancia clínica. Sin embargo, las pequeñas diferencias en HR entre el ACA ( $T^a 22 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $\text{HR } 19 \pm 4\%$ ) y el AIN ( $T^a 24,2 \pm 1,3^\circ\text{C}$ ,  $\text{HR } 34,8 \pm 2,9\%$ ), y el corto periodo de exposición (2 horas) pueden explicar las pequeñas variaciones encontradas en la hiperemia. Es posible que aumenten las diferencias en las variables medidas con tiempos mayores de exposición y/o niveles más bajos de HR.

El análisis de la recuperación a corto y largo plazo, mostró que no se indujo ningún efecto negativo permanente sobre la SO secundario a la exposición al ACA o al AIN, ya que los cambios que se han encontrado muestran tendencia hacia una mejoría de las variables evaluadas, estando siempre dentro de los límites de normalidad de los tests. Estos resultados pueden indicar la necesidad de incrementar el tiempo entre dos exposiciones al ACA para una recuperación completa de los valores basales; no obstante, el hecho de que los sujetos estuvieran utilizando sus LC durante el periodo que transcurrió entre una visita y otra (entre 1 semana y 1 mes), dejando de utilizar las LC únicamente 24 horas antes de las visitas, pudo haber afectado a estos resultados.

### **VII.3. IMPLICACIONES CLÍNICAS Y POSIBLES VÍAS DE CONTINUACIÓN DEL TRABAJO**

El propósito de este estudio fue el de determinar si las diferencias en HR entre el ACA (20%) y el AIN (35%) podrían afectar a la salud de la superficie ocular en usuarios de LC con sintomatología mínima de SOS. Se ha demostrado que una SO ligeramente alterada por el uso de LC pero próxima a la normalidad, puede afectarse negativamente por las condiciones de ACA en tiempos tan cortos como 2 horas, y que las LC pueden inducir cambios similares en la SO, incluso en AIN. La reversibilidad de las características alteradas indicó que, al menos en estas condiciones, no se indujo ninguna patología en los sujetos.

Como se ha mencionado anteriormente, se han creado modelos de queratoconjuntivitis seca en ratón utilizando ambientes adversos. El estrés inducido por desecación de la SO provoca respuestas inflamatorias implicadas en la patogénesis de la enfermedad del SOS.<sup>194, 196</sup> Estos modelos animales podrían ser aplicados a humanos por medio de la exposición a ACA en CAC. Una baja HR provocaría un aumento de la evaporación lagrimal que a su vez induciría



hiperosmolaridad lagrimal,<sup>95</sup> uno de los factores que a su vez podría producir inflamación de la SO, como se ha demostrado in vitro y en animales,<sup>261</sup> aunque no en humanos aún. In vitro, también se ha comprobado que la sequedad resultante de exponer al aire a células de limbo humano produce metaplasia escamosa,<sup>262</sup> uno de los cambios que ocurren en el epitelio conjuntival de sujetos con SOS.

Los modelos de ACA y AIN presentados en este trabajo permitirían mejorar el diseño de los ensayos clínicos. El SOS es uno de los problemas oculares más comunes en la población,<sup>36</sup> pero existe una falta de consenso a nivel internacional en los criterios diagnósticos o en los puntos de corte de los tests clínicos.<sup>250</sup> La estandarización de las condiciones de ACA y AIN ayudaría a obtener resultados más repetibles, tanto en la clínica como en la investigación. También puede ayudar a definir criterios de corte de los tests y a evaluar y desarrollar nuevas tecnologías diagnósticas o terapias<sup>1</sup> sin que los factores ambientales cuestionaran los resultados, ya que estarían bajo control.

Por ello, el Grupo de Superficie Ocular del IOBA se ha planteado la construcción de una CAC con las siguientes características:

- Localizada en las mismas instalaciones del Área Clínica del IOBA, para así estar cercana a unidades médicas que pudieran atender posibles problemas en los individuos (desvanecimientos, mareos...). Por ello, la nueva CAC se construirá en el IOBA, y sólo se realizarán estudios clínicos cuando se encuentren en funcionamiento los quirófanos, lo que garantizará la presencia de un médico anestesiólogo, experto en reanimación cardio-respiratoria.
- La evaluación de los sujetos se hará dentro de la CAC, dividiendo la CAC en dos subcámaras, una de exposición y otra de evaluación, con la consecuente ventaja de que los individuos serán explorados bajo las mismas condiciones a las que han sido expuestos.

- La CAC estará dotada del equipamiento necesario (aseo, puestos de trabajo, ordenadores, televisión...) para que el sujeto pueda estar dentro cómodamente, pudiendo de este modo llevar a cabo estudios de mayor duración.
- En esta nueva CAC, se pretende aumentar el número de pruebas realizadas, poder evaluar a sujetos enfermos (SOS), poder estandarizar tests diagnósticos y finalmente realizar ensayos clínicos terapéuticos.

Por último, y basándose en los resultados obtenidos en este estudio, se puede asegurar que la estandarización del ambiente por medio de una cámara ambiental permitiría:

- Desenmascarar enfermedades de base inflamatoria de la SO.
- Estandarizar tests diagnósticos para su definición, criterios de corte...
- Mejorar el diseño de ensayos clínicos.
- Evaluar de manera más correcta la correlación entre síntomas y signos.
- Evaluar el efecto del ambiente en la SO con tratamientos crónicos (glaucoma...).
- Evaluar y desarrollar tratamientos para el SOS.
- Determinar si una intervención terapéutica rápida, podría prevenir o revertir la progresión de la enfermedad.
- Estudiar la tolerancia a diferentes tipos de LC.
- Evaluar pacientes candidatos a cirugía refractiva.

## *VIII. CONCLUSIONES*

---



1. La cámara de ambiente controlado empleada en este estudio ha podido reproducir las condiciones ambientales adversas (especialmente una baja HR) en las que los seres humanos pasamos una parte considerable de nuestro tiempo.
2. Dos horas de ambiente controlado adverso han demostrado ejercer un efecto adverso sobre la superficie ocular de individuos prácticamente normales, sólo mínimamente sintomáticos cuando usaban sus lentes de contacto. En estos individuos, la exposición al ambiente adverso descrito durante dos horas aumentó sus síntomas y empezó a alterar los signos de síndrome de ojo seco. Es de suponer, por tanto, que cuando se expongan individuos enfermos con síndrome de ojo seco moderado o grave en una cámara ambiental, su superficie ocular se altere de manera más importante.
3. El uso de lentes de contacto aumentó la sintomatología de los individuos, tanto en el ambiente considerado experimental como en el control. Las cámaras de ambiente controlado parecen pues poder servir como modelos útiles para evaluar la tolerancia a las lentes de contacto.
4. El uso de la CAC ha permitido distinguir diferencias en la tolerancia entre dos tipos de LC, por ello, se puede asumir que los ACA regulados en una CAC tengan una utilidad especial a la hora de seleccionar qué LC serán más cómodas e inocuas para la SO.
5. Los cambios producidos en individuos prácticamente normales durante 2 horas han sido reversibles. Está por determinar si esto será así cuando, en el futuro, se estudien sujetos con mayor grado de alteración de la SO y/o en situaciones ambientales más adversas (mayor duración, menor HR...).



## ***IX. BIBLIOGRAFÍA***

---





1. Abelson MB, Ousler GW, III, Nally LA, Emory TB. Dry eye syndromes: diagnosis, clinical trials and pharmaceutical treatment--'improving clinical trials'. *Adv Exp Med Biol*. 2002;506:1079-1086.
2. Muzi G, dell'Omo M, Abbritti G, Accattoli P, Fiore MC, Gabrielli AR. Objective assessment of ocular and respiratory alterations in employees in a sick building. *Am J Ind Med*. 1998;34:79-88.
3. Backman H, Haghighat F. Indoor-air quality and ocular discomfort. *J Am Optom Assoc*. 1999;70:309-316.
4. Backman H, Haghighat F. Air quality and ocular discomfort aboard commercial aircraft. *Optometry*. 2000;71:653-656.
5. Travers PH, Stanton BA. Office workers and video display terminals: physical, psychological and ergonomic factors. *AAOHN J*. 2002;50:489-493.
6. Muzi G, Abbritti G, Accattoli MP, dell'Omo M. Prevalence of irritative symptoms in a nonproblem air-conditioned office building. *Int Arch Occup Environ Health*. 1998;71:372-378.
7. Sweeney D. *Silicone Hydrogels Continuous-Wear Contact Lenses*. Second edition ed. London: Butterworth-Heinemann; 2004.
8. Nichols JJ, Sinnott LT. Tear film, contact lens, and patient-related factors associated with contact lens-related dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:1319-1328.
9. Chalmers RL, Begley CG. Dryness symptoms among an unselected clinical population with and without contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye*. 2006;29:25-30.
10. Begley CG, Caffery B, Nichols KK, Chalmers R. Responses of contact lens wearers to a dry eye survey. *Optom Vis Sci*. 2000;77:40-46.
11. Cedarstaff TH, Tomlinson A. A comparative study of tear evaporation rates and water content of soft contact lenses. *Am J Optom Physiol Opt*. 1983;60:167-174.
12. Rocher P, Fatt I. Air temperature and relative humidity in man-made environments which may influence evaporation from a hydrogel contact lens on the eye. *Optometry Today*. 1995;3:18-22.
13. Pritchard N, Fonn D. Dehydration, lens movement and dryness ratings of hydrogel contact lenses. *Ophthalmic Physiol Opt*. 1995;15:281-286.
14. Nilsson SE, Andersson L. Contact lens wear in dry environments. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1986;64:221-225.
15. Young G, Bowers R, Hall B, Port M. Clinical comparison of Omafilcon A with four control materials. *CLAO J*. 1997;23:249-258.
16. Hall B, Jones S, Young G, Coleman S. The on-eye dehydration of proclear compatibles lenses. *CLAO J*. 1999;25:233-237.

17. Riley C, Chalmers RL, Pence N. The impact of lens choice in the relief of contact lens related symptoms and ocular surface findings. *Cont Lens Anterior Eye*. 2005;28:13-19.
18. Riley C, Young G, Chalmers R. Prevalence of ocular surface symptoms, signs, and uncomfortable hours of wear in contact lens wearers: the effect of refitting with daily-wear silicone hydrogel lenses (senofilcon a). *Eye Contact Lens*. 2006;32:281-286.
19. Chalmers RL, Dillehay S, Long B, et al. Impact of previous extended and daily wear schedules on signs and symptoms with high Dk lotrafilcon A lenses. *Optom Vis Sci*. 2005;82:549-554.
20. Fonn D, Situ P, Simpson T. Hydrogel lens dehydration and subjective comfort and dryness ratings in symptomatic and asymptomatic contact lens wearers. *Optom Vis Sci*. 1999;76:700-704.
21. Fonn D, Dumbleton K. Dryness and discomfort with silicone hydrogel contact lenses. *Eye Contact Lens*. 2003;29:S101-S104.
22. Horak F, Jager S, Berger U. Onset and duration of the effects of three antihistamines in current use--astemizole, loratadine and terfenadine forte--studied during prolonged, controlled allergen challenges in volunteers. *J Int Med Res*. 1992;20:422-434.
23. Day JH, Buckeridge DL, Clark RH, Briscoe MP, Phillips R. A randomized, double-blind, placebo-controlled, controlled antigen delivery study of the onset of action of aerosolized triamcinolone acetonide nasal spray in subjects with ragweed-induced allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;97:1050-1057.
24. Krug N, Hohlfeld JM, Larbig M, et al. Validation of an environmental exposure unit for controlled human inhalation studies with grass pollen in patients with seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2003;33:1667-1674.
25. Weber A, Jermini C, Grandjean E. Irritating effects on man of air pollution due to cigarette smoke. *Am J Public Health*. 1976;66:672-676.
26. Molhave L, Kjaergaard SK, Attermann J. Effects in the eyes caused by exposure to office dust. *Indoor Air*. 2002;12:165-174.
27. Mundorf T, Wilcox KA, Ousler GW, III, Welch D, Abelson MB. Evaluation of the comfort of Alphagan P compared with Alphagan in irritated eyes. *Adv Ther*. 2003;20:329-336.
28. Dursun D, Wang M, Monroy D, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:632-638.
29. Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana MR. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:2766-2771.
30. Ousler GW, III, Abelson MB, Nally LA, Welch D, Casavant JS. Evaluation of the time to "natural compensation" in normal and dry eye subject populations during exposure to a controlled adverse environment. *Adv Exp Med Biol*. 2002;506:1057-1063.

31. Maruyama K, Yokoi N, Takamata A, Kinoshita S. Effect of environmental conditions on tear dynamics in soft contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:2563-2568.
32. Morgan PB, Efron N, Morgan SL, Little SA. Hydrogel contact lens dehydration in controlled environmental conditions. *Eye Contact Lens.* 2004;30:99-102.
33. Lemp MA. Epidemiology and classification of dry eye. *Adv Exp Med Biol.* 1998;438:791-803.
34. Begley CG, Chalmers RL, Mitchell GL, et al. Characterization of ocular surface symptoms from optometric practices in North America. *Cornea.* 2001;20:610-618.
35. Doughty MJ, Fonn D, Richter D, Simpson T, Caffery B, Gordon K. A patient questionnaire approach to estimating the prevalence of dry eye symptoms in patients presenting to optometric practices across Canada. *Optom Vis Sci.* 1997;74:624-631.
36. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:318-326.
37. Brewitt H, Sistani F. Dry eye disease: the scale of the problem. *Surv Ophthalmol.* 2001;45 Suppl 2:S199-S202.
38. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, Stanislavsky YL, Taylor HR. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology.* 1998;105:1114-1119.
39. Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology.* 2003;110:1096-1101.
40. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995;21:221-232.
41. . The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007;5:75-92.
42. Herreras JM, Perez S, Perez H, Calonge M, Pastor JC. Influence of topical anesthesia on tests diagnostic of blepharitis-associated dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm.* 1997;5:33-41.
43. Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol.* 1996;40:343-367.
44. Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome. *Ophthalmology.* 1998;105:1485-1488.
45. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea.* 1998;17:584-589.
46. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res.* 2004;78:409-416.

47. Williamson J, Gibson AA, Wilson T, Forrester JV, Whaley K, Dick WC. Histology of the lacrimal gland in keratoconjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol*. 1973;57:852-858.
48. Gao J, Schwalb TA, Addeo JV, Ghosn CR, Stern ME. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical Cyclosporin A therapy. *Cornea*. 1998;17:654-663.
49. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, Smith JA, Gipson IK. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol*. 2000;118:1489-1496.
50. Baudouin C, Bourcier T, Brignole F, et al. Correlation between tear IgE levels and HLA-DR expression by conjunctival cells in allergic and nonallergic chronic conjunctivitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2000;238:900-904.
51. Turner K, Pflugfelder SC, Ji Z, Feuer WJ, Stern M, Reis BL. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea*. 2000;19:492-496.
52. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, et al. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjogren's and non-Sjogren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:2609-2614.
53. Sullivan DA, Krenzer KL, Sullivan BD, Tolls DB, Toda I, Dana MR. Does androgen insufficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous tear deficiency? *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40:1261-1265.
54. Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, et al. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:4874-4882.
55. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. A unified theory of the role of the ocular surface in dry eye. *Adv Exp Med Biol*. 1998;438:643-651.
56. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res*. 1999;19:201-211.
57. Solomon A, Dursun D, Liu Z, Xie Y, Macri A, Pflugfelder SC. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:2283-2292.
58. Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:124-129.
59. Heigle TJ, Pflugfelder SC. Aqueous tear production in patients with neurotrophic keratitis. *Cornea*. 1996;15:135-138.
60. Bacman S, Berra A, Sterin-Borda L, Borda E. Muscarinic acetylcholine receptor antibodies as a new marker of dry eye Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:321-327.
61. Battat L, Macri A, Dursun D, Pflugfelder SC. Effects of laser in situ keratomileusis on tear production, clearance, and the ocular surface. *Ophthalmology*. 2001;108:1230-1235.

62. . Indoor air pollutants: exposure and health effects. In: Copenhagen, Denmark: World Health Organization; 1983.
63. Bluysen PM, De Oliveira Fernandes E, Groes L, et al. European indoor air quality audit project in 56 office buildings. *Indoor Air*. 1996;6:221-238.
64. Menzies R, Tamblyn R, Farant JP, Hanley J, Nunes F, Tamblyn R. The effect of varying levels of outdoor-air supply on the symptoms of sick building syndrome. *N Engl J Med*. 1993;328:821-827.
65. Franck C, Bach E, Skov P. Prevalence of objective eye manifestations in people working in office buildings with different prevalences of the sick building syndrome compared with the general population. *Int Arch Occup Environ Health*. 1993;65:65-69.
66. Franck C. Eye symptoms and signs in buildings with indoor climate problems ('office eye syndrome'). *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1986;64:306-311.
67. Hedge A, Erickson A, Rubin G. Predicting sick building syndrome at the individual and aggregate levels. *Environ Int*. 1996;22:3-19.
68. Mendell MJ. Non-specific symptoms in office workers: a review and summary of the epidemiologic literature. *Indoor Air*. 1993;3:227-236.
69. Hodgson M. The sick-building syndrome. *Occup Med*. 1995;10:167-175.
70. Menzies D, Tamblyn RM, Nunes F, Hanley J, Tamblyn RT. Exposure to varying levels of contaminants and symptoms among workers in two office buildings. *Am J Public Health*. 1996;86:1629-1633.
71. Bourbeau J, Brisson C, Allaire S. Prevalence of the sick building syndrome symptoms in office workers before and six months and three years after being exposed to a building with an improved ventilation system. *Occup Environ Med*. 1997;54:49-53.
72. Zweers T, Preller L, Brunekreef B, Boleij JSM. Health and indoor climate complaints of 7043 office workers in 61 buildings in the Netherlands. *Indoor Air*. 1992;2:127-136.
73. Stenberg B, Mild KH, Sandstrom M, Sundell J, Wall S. A prevalence study of the sick building syndrome (SBS) and facial skin symptoms in office workers. *Indoor Air*. 1993;3:71-81.
74. Lenvick K. Smoking habits, atopy, and prevalence of sick building syndrome symptoms among office workers in Norway. *Environ Int*. 1993;19:333-340.
75. Berglund LG. Comfort and humidity. *ASHRAE Journal*. 1998;40:35-41.
76. Reinikainen LM, Jaakkola JJ, Seppanen O. The effect of air humidification on symptoms and perception of indoor air quality in office workers: a six-period cross-over trial. *Arch Environ Health*. 1992;47:8-15.
77. Nordstrom K, Norback D, Akseleson R. Effect of air humidification on the sick building syndrome and perceived indoor air quality in hospitals: a four month longitudinal study. *Occup Environ Med*. 1994;51:683-688.

78. Wyon DP. Sick building and the experimental approach. *Environ Technol.* 1992;13:313-322.
79. Franck C, Palmvang IB. Break-up time and lissamine green epithelial damage in 'office eye syndrome'. Six-month and one-year follow-up investigations. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1993;71:62-64.
80. Wolkoff P, Skov P, Franck C, Petersen LN. Eye irritation and environmental factors in the office environment--hypotheses, causes and a physiological model. *Scand J Work Environ Health.* 2003;29:411-430.
81. Wolkoff P, Nojgaard JK, Franck C, Skov P. The modern office environment desiccates the eyes? *Indoor Air.* 2006;16:258-265.
82. Comitee on Airliner Cabin Air Quality NRC. The airliner cabin environment: Air Quality and Safety. In: Washington DC: National Academy Press; 1986.
83. Space DR, Johnson RA, Rankin WL, Nagda NL. The airplane cabin environment: Past, present and future research. In: Nagda NL (ed), *Air quality and comfort in airliner cabins* West Conshohocken, PA: American Society for Testing Materials; 2000:189-214.
84. Nagda NL, Hodgson M. Low relative humidity and aircraft cabin air quality. *Indoor Air.* 2001;11:200-214.
85. Eng WG. Survey on eye comfort in aircraft: I. Flight attendants. *Aviat Space Environ Med.* 1979;50:401-404.
86. Eng WG. Survey on eye comfort in aircraft: II. Use of ophthalmic solutions. *Aviat Space Environ Med.* 1979;50:1166-1169.
87. Eng WG, Harada LK, Jagerman LS. The wearing of hydrophilic contact lenses aboard a commercial jet aircraft: I. Humidity effects on fit. *Aviat Space Environ Med.* 1982;53:235-238.
88. Pierce WM, Janczewski JN, Roethlisberger B, Janczewski MG. Air quality on commercial aircraft. *ASHRAE Journal.* 1999;41:26-34.
89. Norback D, Lindgren T, Wieslander G. Changes in ocular and nasal signs and symptoms among air crew in relation to air humidification on intercontinental flights. *Scand J Work Environ Health.* 2006;32:138-144.
90. Von Bahr G. Könnte der Flüssigkeitsabgang durch die Cornea von physiologischer Bedeutung sein? *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1941;19:125-134.
91. Hamano H, Hori M, Mitsunaga S. Application of an evaporimeter to the field of ophthalmology. *J Jpn Contact Lens Soc.* 1980;22:101-107.
92. Rolando M, Refojo MF. Tear evaporimeter for measuring water evaporation rate from the tear film under controlled conditions in humans. *Exp Eye Res.* 1983;36:25-33.
93. Rolando M, Refojo MF, Kenyon KR. Tear water evaporation and eye surface diseases. *Ophthalmologica.* 1985;190:147-149.

94. Tsubota K, Yamada M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992;33:2942-2950.
95. Mathers WD, Binarao G, Petroll M. Ocular water evaporation and the dry eye. A new measuring device. *Cornea.* 1993;12:335-340.
96. Goto E, Matsumoto Y, Kamoi M, et al. Tear evaporation rates in Sjogren syndrome and non-Sjogren dry eye patients. *Am J Ophthalmol.* 2007;144:81-85.
97. Hamano H. The change of precorneal tear film by the application of contact lenses. *Contact Intraocul Lens Med J.* 1981;7:205-209.
98. Tomlinson A, Trees GR, Occhipinti JR. Tear production and evaporation in the normal eye. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1991;11:44-47.
99. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci.* 1997;74:8-13.
100. Singh G, Bhinder HS. Closed chamber thermometry and humidity measurements in normal and dry eye patients: a pilot study. *Eur J Ophthalmol.* 2003;13:343-350.
101. Singh G, Bhinder HS. Relationship of symptomatology with closed chamber infrared thermometry and humidity in dry eyes. *Eur J Ophthalmol.* 2005;15:186-195.
102. McCulley JP, Aronowicz JD, Uchiyama E, Shine WE, Butovich IA. Correlations in a change in aqueous tear evaporation with a change in relative humidity and the impact. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:758-760.
103. McCulley JP, Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA. Impact of evaporation on aqueous tear loss. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2006;104:121-128.
104. Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA, McCulley JP. Increased evaporative rates in laboratory testing conditions simulating airplane cabin relative humidity: an important factor for dry eye syndrome. *Eye Contact Lens.* 2007;33:174-176.
105. Korb DR, Greiner JV, Glonek T, Esbah R, Finnemore VM, Whalen AC. Effect of periocular humidity on the tear film lipid layer. *Cornea.* 1996;15:129-134.
106. Korb DR. Alleviation of computer-induced eye discomfort syndrome and associated lipid layer changes. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506:501-506.
107. Yee RW, Sperling HG, Kattek A, et al. Isolation of the ocular surface to treat dysfunctional tear syndrome associated with computer use. *Ocul Surf.* 2007;5:308-315.
108. McNamara NA, Chan JS, Han SC, Polse KA, McKenney CD. Effects of hypoxia on corneal epithelial permeability. *Am J Ophthalmol.* 1999;127:153-157.
109. Hempel-Jorgensen A, Kjaergaard SK, Molhave L. Cytological changes and conjunctival hyperemia in relation to sensory eye irritation. *Int Arch Occup Environ Health.* 1998;71:225-235.

110. Podlekareva D, Pan Z, Kjaergaard S, Molhave L. Irritation of the human eye mucous membrane caused by airborne pollutants. *Int Arch Occup Environ Health*. 2002;75:359-364.
111. Kjaergaard S, Pedersen OF, Molhave L. Sensitivity of the eyes to airborne irritant stimuli: influence of individual characteristics. *Arch Environ Health*. 1992;47:45-50.
112. Day JH, Horak F, Briscoe M, et al. The role of allergen challenge chambers in the evaluation of anti-allergic medication: an international consensus paper. *Clinical and Experimental Allergy Reviews*. 2006;6:31-59.
113. Horak F, Jager S. The Vienna challenge chamber - a new method of allergy exposure tests. *Wien Klin Wochenschr*. 1987;99:509-510.
114. Horak F, Jager S. VCC- Vienna Challenge Chamber- the protective effects of Astemizole. *Allergy*. 1988;43:110.
115. Horak F, Jager S. Astemizole, terfenadine and loratadine during long-term allergen challenge in the Vienna Challenge Chamber. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1991;87:152.
116. Horak F, Jager S, Nirnberger G, et al. Pharmacodynamic dose finding of dimetindene in a sustained release formulation. *Arzneimittelforschung*. 1993;43:1193-1195.
117. Horak F, Toth J, Jager S, Berger U. Effects of H1-receptor antagonists on nasal obstruction in atopic patients. *Allergy*. 1993;48:226-229.
118. Horak FF, Jager S, Nirnberger G, et al. Dose-related control of allergic rhinitis symptoms by a H1-receptor antagonist. Finding the proper doses [correction of dosis] of dimethindene maleate in patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;103:298-302.
119. Horak F, Jager S, Berger U, et al. Controlled exposure to mite allergen for a dose-finding of dimethindene maleate (DMM). *Agents Actions*. 1994;41 Spec No:C124-C126.
120. Horak F, Berger U, Menapace R, Schuster N. Quantification of conjunctival vascular reaction by digital imaging. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98:495-500.
121. Horak F, Jager S, Toth J, Berger U. Efficacy and tolerability of astemizole-D and Loratadine-D during prolonged, controlled allergen challenge in the Vienna Challenge Chamber. *Arzneimittelforschung*. 1996;46:1077-1081.
122. Kyrein HJ, Horak F, Nirnberger G, Rehn D. Efficacy of intranasally applied dimethindene maleate solution as spray in adult volunteers with symptoms of seasonal allergic rhinitis in the Vienna challenge chamber. *Arzneimittelforschung*. 1996;46:794-799.
123. Toth J, Schultze-Werninghaus C, Marks B, et al. Environmental priming influences allergen-specific nasal reactivity. *Allergy*. 1998;53:1172-1177.
124. Temmel AF, Toth J, Marks B, et al. Rhinoresistometry versus rhinomanometry--an evaluation. *Wien Klin Wochenschr*. 1998;110:612-615.



125. Horak F, Toth J, Marks B, et al. Efficacy and safety relative to placebo of an oral formulation of cetirizine and sustained-release pseudoephedrine in the management of nasal congestion. *Allergy*. 1998;53:849-856.
126. Horak F, Stubner P, Berger UE, Marks B, Toth J, Jager S. Immunotherapy with sublingual birch pollen extract. A short-term double-blind placebo study. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 1998;8:165-171.
127. Horak F, Berger UE, Menapace R, Toth J, Stubner PU, Marks B. Dose-dependent protection by azelastine eye drops against pollen-induced allergic conjunctivitis. A double-blind, placebo-controlled study. *Arzneimittelforschung*. 1998;48:379-384.
128. Horak F, Toth J, Hirschwehr R, et al. Effect of continuous allergen challenge on clinical symptoms and mediator release in dust-mite-allergic patients. *Allergy*. 1998;53:68-72.
129. Horak F, Unkauf M, Beckers C, Mittermaier EM. Efficacy and tolerability of intranasally applied dimetindene maleate solution versus placebo in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *Arzneimittelforschung*. 2000;50:1099-1105.
130. Horak F, Stubner P, Zieglmayer R, et al. Controlled comparison of the efficacy and safety of cetirizine 10 mg o.d. and fexofenadine 120 mg o.d. in reducing symptoms of seasonal allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001;125:73-79.
131. Stubner UP, Toth J, Marks B, Berger UE, Burtin B, Horak F. Efficacy and safety of an oral formulation of cetirizine and prolonged-release pseudoephedrine versus xylometazoline nasal spray in nasal congestion. *Arzneimittelforschung*. 2001;51:904-910.
132. Horak F, Stubner UP, Zieglmayer R, Harris AG. Effect of desloratadine versus placebo on nasal airflow and subjective measures of nasal obstruction in subjects with grass pollen-induced allergic rhinitis in an allergen-exposure unit. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109:956-961.
133. Horak F, Stubner P. Descongestant activity of desloratadine in controlled-allergen-exposure trials. *Clin Drug Investig*. 2002;13-20.
134. Horak F, Stuebner P, Zieglmayer R, McWhirter CL, Gekkieva M. Efficacy and safety of ketotifen eye drops as adjunctive therapy to mometasone nasal spray in subjects with seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Clin Drug Investig*. 2003;23:597-604.
135. Horak F, Stubner P, Zieglmayer R, Kawina A, Moser M, Lanz R. Onset and duration of action of ketotifen 0.025% and emedastine 0.05% in seasonal allergic conjunctivitis : efficacy after repeated pollen challenges in the vienna challenge chamber. *Clin Drug Investig*. 2003;23:329-337.
136. Horak F, Stubner PU, Zieglmayer PU, Harris AG. Comparison of the effects of desloratadine 5-mg daily and placebo on nasal airflow and seasonal allergic rhinitis symptoms induced by grass pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;956-961.
137. Stubner P, Zieglmayer R, Horak F. A direct comparison of the efficacy of antihistamines in SAR and PAR: randomised, placebo-controlled studies with levocetirizine and loratadine using an environmental exposure unit - the Vienna Challenge Chamber (VCC). *Curr Med Res Opin*. 2004;20:891-902.

138. Zieglmayer UP, Horak F, Toth J, Marks B, Berger UE, Burtin B. Efficacy and safety of an oral formulation of cetirizine and prolonged-release pseudoephedrine versus budesonide nasal spray in the management of nasal congestion in allergic rhinitis. *Treat Respir Med.* 2005;4:283-287.
139. Horak F, Zieglmayer PU, Zieglmayer R, Kavina A, Lemell P. Levocetirizine has a longer duration of action on improving total nasal symptoms score than fexofenadine after single administration. *Br J Clin Pharmacol.* 2005;60:24-31.
140. Stuebner P, Horak F, Zieglmayer R, et al. Effects of rupatadine vs placebo on allergen-induced symptoms in patients exposed to aeroallergens in the Vienna Challenge Chamber. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006;96:37-44.
141. Horak F, Zieglmayer UP, Zieglmayer R, et al. Azelastine nasal spray and desloratadine tablets in pollen-induced seasonal allergic rhinitis: a pharmacodynamic study of onset of action and efficacy. *Curr Med Res Opin.* 2006;22:151-157.
142. Day JH, Briscoe MP. Environmental exposure unit: a system to test anti-allergic treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999;83:83-89.
143. Donovan JP, Buckeridge DL, Briscoe MP, Clark RH, Day JH. Efficacy of immunotherapy to ragweed antigen tested by controlled antigen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;77:74-80.
144. Day JH, Briscoe MP, Welsh A, et al. Onset of action, efficacy, and safety of a single dose of fexofenadine hydrochloride for ragweed allergy using an environmental exposure unit. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997;79:533-540.
145. Day JH, Briscoe MP, Clark RH, Ellis AK, Gervais P. Onset of action and efficacy of terfenadine, astemizole, cetirizine, and loratadine for the relief of symptoms of allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997;79:163-172.
146. Day JH, Briscoe M, Widlitz MD. Cetirizine, loratadine, or placebo in subjects with seasonal allergic rhinitis: effects after controlled ragweed pollen challenge in an environmental exposure unit. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:638-645.
147. Ellis AK, Day JH, Lundie MJ. Impact on quality of life during an allergen challenge research trial. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999;83:33-39.
148. Day JH, Briscoe MP, Rafeiro E, Ellis AK, Pettersson E, Akerlund A. Onset of action of intranasal budesonide (Rhinocort aqua) in seasonal allergic rhinitis studied in a controlled exposure model. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:489-494.
149. Day JH, Briscoe M, Rafeiro E, Chapman D, Kramer B. Comparative onset of action and symptom relief with cetirizine, loratadine, or placebo in an environmental exposure unit in subjects with seasonal allergic rhinitis: confirmation of a test system. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2001;87:474-481.
150. Ellis AK, Rafeiro E, Day JH. Quality of life indices may be predictive of placebo and medication response to treatment for allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2001;86:393-396.

151. Wilken JA, Kane RL, Ellis AK, et al. A comparison of the effect of diphenhydramine and desloratadine on vigilance and cognitive function during treatment of ragweed-induced allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;91:375-385.
152. Day JH, Briscoe MP, Rafeiro E, Ratz JD. Comparative clinical efficacy, onset and duration of action of levocetirizine and desloratadine for symptoms of seasonal allergic rhinitis in subjects evaluated in the Environmental Exposure Unit (EEU). *Int J Clin Pract.* 2004;58:109-118.
153. Day JH, Briscoe MP, Rafeiro E, Hewlett D, Jr., Chapman D, Kramer B. Randomized double-blind comparison of cetirizine and fexofenadine after pollen challenge in the Environmental Exposure Unit: duration of effect in subjects with seasonal allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc.* 2004;25:59-68.
154. Day JH, Briscoe MP, Rafeiro E, et al. Comparative efficacy of cetirizine and fexofenadine for seasonal allergic rhinitis, 5-12 hours postdose, in the environmental exposure unit. *Allergy Asthma Proc.* 2005;26:275-282.
155. Ronborg SM, Mosbech H, Johnsen CR, Poulsen LK. Exposure chamber for allergen challenge. The development and validation of a new concept. *Allergy.* 1996;51:82-88.
156. Ronborg SM, Mosbech H, Poulsen LK. Exposure chamber for allergen challenge. A placebo-controlled, double-blind trial in house-dust-mite asthma. *Allergy.* 1997;52:821-828.
157. Berkowitz RB, Woodworth GG, Lutz C, et al. Onset of action, efficacy, and safety of fexofenadine 60 mg/pseudoephedrine 120 mg versus placebo in the Atlanta allergen exposure unit. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;89:38-45.
158. Wilken JA, Berkowitz R, Kane R. Decrements in vigilance and cognitive functioning associated with ragweed-induced allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;89:372-380.
159. Berkowitz RB, McCafferty F, Lutz C, et al. Fexofenadine HCl 60 mg/ pseudoephedrine HCl 120 mg has a 60-minute onset of action in the treatment of seasonal allergic rhinitis symptoms, as assessed in an allergen exposure unit. *Allergy Asthma Proc.* 2004;25:335-343.
160. Berkowitz RB, McCafferty F, Lutz C, et al. Onset of action of fexofenadine hydrochloride 60 mg/pseudoephedrine hydrochloride 120 mg in subjects aged 12 years with moderate to severe seasonal allergic rhinitis: a pooled analysis of two single-dose, randomized, double-blind, placebo-controlled allergen exposure unit studies. *Clin Ther.* 2006;28:1658-1669.
161. Krug N, Hohlfeld JM, Geldmacher H, et al. Effect of loteprednol etabonate nasal spray suspension on seasonal allergic rhinitis assessed by allergen challenge in an environmental exposure unit. *Allergy.* 2005;60:354-359.
162. Enomoto T, Ide T, Ogino S. Construction of an environmental exposure unit and investigation of the effects of cetirizine hydrochloride on symptoms of cedar pollinosis in Japan. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007;17:173-181.

163. Xiao JZ, Kondo S, Yanagisawa N, et al. Clinical efficacy of probiotic *Bifidobacterium longum* for the treatment of symptoms of Japanese cedar pollen allergy in subjects evaluated in an environmental exposure unit. *Allergol Int.* 2007;56:67-75.
164. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, et al. Preliminary study on Japanese cedar pollinosis in an artificial exposure chamber (OHIO Chamber). *Allergol Int.* 2007;56:125-130.
165. Andersen I, Lundqvist GR, Molhave L, et al. Human response to controlled levels of toluene in six-hour exposures. *Scand J Work Environ Health.* 1983;9:405-418.
166. Molhave L, Bach B, Pedersen OF. Human reactions to low concentrations of volatile organic compounds. *Environ Int.* 1986;12:167-175.
167. Molhave L, Moller J. The atmospheric environment in modern Danish dwellings-Measurements in 39 flats. In: Fanger PO, Valbjorn O (eds), *Indoor Climate* Horsholm, Denmark: SBI; 1979:171-186.
168. Molhave L. Indoor air pollution due to organic gases and vapors of solvents in building materials. *Environ Int.* 1982;8:117-127.
169. Kjaergaard S, Molhave L, Pedersen OF. Human reactions to indoor air pollutants: n-Decane. *Environ Int.* 1989;15:473-482.
170. Pan Z, Molhave L, Kjaergaard SK. Effects on eyes and nose in humans after experimental exposure to airborne office dust. *Indoor Air.* 2000;10:237-245.
171. Johnsen CR, Heinig JH, Schmidt K, et al. A study of human reactions to emissions from building materials in climate chambers. Part I: clinical data, performance and comfort. *Indoor Air.* 1991;1:377-388.
172. Wieslander G, Norback D, Lindgren T. Experimental exposure to propylene glycol mist in aviation emergency training: acute ocular and respiratory effects. *Occup Environ Med.* 2001;58:649-655.
173. Andersen I, Lundqvist GR, Proctor DF. Human perception of humidity under four controlled conditions. *Arch Environ Health.* 1973;26:22-27.
174. Andersen I, Lundqvist GR, Jensen PL, Proctor DF. Human response to 78-hour exposure to dry air. *Arch Environ Health.* 1974;29:319-324.
175. Carleton WM, Welch B. Fluid balance in artificial environments. In. NASA Report CR-114977 ed.: United States Air Force School of Aerospace Medicine; 1971.
176. Eng WG, Rasco JL, Marano JA. Low atmospheric pressure effects on wearing soft contact lenses. *Aviat Space Environ Med.* 1978;49:73-75.
177. McIntyre DA, Griffiths ID. Subjective responses to atmospheric humidity. *Environ Res.* 1975;9:66-75.
178. Macintyre DA. Response to atmospheric humidity at comfortable air temperature: a comparison of three experiments. *Ann Occup Hyg.* 1978;21:177-190.

179. Sunwoo Y, Chou C, Takeshita J, Murakami M, Tochiara Y. Physiological and subjective responses to low relative humidity. *J Physiol Anthropol.* 2006;25:7-14.
180. Sunwoo Y, Chou C, Takeshita J, Murakami M, Tochiara Y. Physiological and subjective responses to low relative humidity in young and elderly men. *J Physiol Anthropol.* 2006;25:229-238.
181. Strom-Tejse P, Wyon DP, Lagercrantz L, Fang L. Passenger evaluation of the optimum balance between fresh air supply and humidity from 7-h exposures in a simulated aircraft cabin. *Indoor Air.* 2007;17:92-108.
182. Wyon NM, Wyon DP. Measurement of acute response to draught in the eye. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1987;65:385-392.
183. Ousler GW, Gomes PJ, Welch D, Abelson MB. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf.* 2005;3:143-154.
184. Welch D, Ousler GW, III, Nally LA, Abelson MB, Wilcox KA. Ocular drying associated with oral antihistamines (loratadine) in the normal population-an evaluation of exaggerated dose effect. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506:1051-1055.
185. Ousler GW, Wilcox KA, Gupta G, Abelson MB. An evaluation of the ocular drying effects of 2 systemic antihistamines: loratadine and cetirizine hydrochloride. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004;93:460-464.
186. Gonzalez-Meijome JM, Parafita MA, Yebra-Pimentel E, Almeida JB. Symptoms in a population of contact lens and noncontact lens wearers under different environmental conditions. *Optom Vis Sci.* 2007;84:296-302.
187. Young G, Riley CM, Chalmers RL, Hunt C. Hydrogel lens comfort in challenging environments and the effect of refitting with silicone hydrogel lenses. *Optom Vis Sci.* 2007;84:302-308.
188. Laviana JE, Rohles FH, Bullock PE. Humidity, comfort and contact lenses. *ASHRAE Transactions.* 1988;94:3-11.
189. Barabino S, Dana MR. Animal models of dry eye: a critical assessment of opportunities and limitations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:1641-1646.
190. Burgalassi S, Panichi L, Chetoni P, Saettone MF, Boldrini E. Development of a simple dry eye model in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes. *Ophthalmic Res.* 1999;31:229-235.
191. Toshida H, Nguyen DH, Beuerman RW, Murakami A. Evaluation of novel dry eye model: preganglionic parasympathetic denervation in rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4468-4475.
192. Fujihara T, Nagano T, Nakamura M, Shirasawa E. Establishment of a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther.* 1995;11:503-508.
193. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG. Tear film and ocular surface changes after closure of the meibomian gland orifices in the rabbit. *Ophthalmology.* 1989;96:1180-1186.

194. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:4293-4301.
195. Corrales RM, Villarreal A, Farley W, Stern ME, Li DQ, Pflugfelder SC. Strain-related cytokine profiles on the murine ocular surface in response to desiccating stress. *Cornea.* 2007;26:579-584.
196. Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol.* 2006;176:3950-3957.
197. Barabino S, Rolando M, Chen L, Dana MR. Exposure to a dry environment induces strain-specific responses in mice. *Exp Eye Res.* 2007;84:973-977.
198. Chen W, Zhang X, Zhang J, et al. A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:1386-1391.
199. Nakamura S, Shibuya M, Nakashima H, Imagawa T, Uehara M, Tsubota K. D-beta-hydroxybutyrate protects against corneal epithelial disorders in a rat dry eye model with jogging board. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:2379-2387.
200. Choy EP, Cho P, Benzie IF, Choy CK, To TS. A novel porcine dry eye model system (pDEM) with simulated lacrimation/blinking system: preliminary findings on system variability and effect of corneal drying. *Curr Eye Res.* 2004;28:319-325.
201. Choy EP, Cho P, Benzie IF, Choy CK. Dry eye and blink rate simulation with a pig eye model. *Optom Vis Sci.* 2008;85:129-134.
202. Gabela Merino MI, Gonzalez Garcia MJ, Mayo IA, Calonge CM. [Dry eye signs and symptoms in hydrogel contact lens wearers: relation to smoking habit]. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2003;78:543-548.
203. Lemp MA, Dohlman CH, Kuwabara T, Holly FJ, Carroll JM. Dry eye secondary to mucus deficiency. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1971;75:1223-1227.
204. Efron N. Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1998;18:182-186.
205. Bron AJ. The Doyne Lecture. Reflections on the tears. *Eye.* 1997;11 ( Pt 5):583-602.
206. deLuise VP, Tabbara KF. Quantitation of tear lysozyme levels in dry-eye disorders. *Arch Ophthalmol.* 1983;101:634-635.
207. Velos P, Cherry PM, Miller D. An improved method for measuring human tear lysozyme concentration. *Arch Ophthalmol.* 1985;103:31-33.
208. Acosta MC, Gallar J, Belmonte C. The influence of eye solutions on blinking and ocular comfort at rest and during work at video display terminals. *Exp Eye Res.* 1999;68:663-669.

209. La Hood D. Edge shape and comfort of rigid lenses. *Am J Optom Physiol Opt.* 1988;65:613-618.
210. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res.* 1985;4:1-7.
211. Mengher LS, Pandher KS, Bron AJ. Non-invasive tear film break-up time: sensitivity and specificity. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1986;64:441-444.
212. Murphy PJ, Lau JS, Sim MM, Woods RL. How red is a white eye? Clinical grading of normal conjunctival hyperaemia. *Eye.* 2007;21:633-638.
213. Sakamoto R, Bennett ES, Henry VA, et al. The phenol red thread tear test: a cross-cultural study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34:3510-3514.
214. 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 Physiol Opt.* 1998;18:471-476.
215. 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.* 1993;70:30-38.
216. Copeland JR, Lamberts DW, Holly FJ. Investigation of the accuracy of tear lysozyme determination by the Quantiplate method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1982;22:103-110.
217. Jones LT. The lacrimal secretory system and its treatment. *J All India Ophthalmol Soc.* 1966;14:191-196.
218. Raizman MB, Rothman JS, Maroun F, Rand WM. Effect of eye rubbing on signs and symptoms of allergic conjunctivitis in cat-sensitive individuals. *Ophthalmology.* 2000;107:2158-2161.
219. Stewart WC, Kolker AE, Stewart JA, Leech J, Jackson AL. Conjunctival hyperemia in healthy subjects after short-term dosing with latanoprost, bimatoprost, and travoprost. *Am J Ophthalmol.* 2003;135:314-320.
220. Dursun D, Akça S, Akova YA, et al. Smoking Associated With Damage to the Lipid Layer of the Ocular Surface. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:1016-1021.
221. Goto E, Dogru M, Fukagawa K, et al. Successful tear lipid layer treatment for refractory dry eye in office workers by low-dose lipid application on the full-length eyelid margin. *Am J Ophthalmol.* 2006;142:264-270.
222. Papas EB. Key factors in the subjective and objective assessment of conjunctival erythema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:687-691.
223. Seber GA. *Multivariate Observations* New York: John Wiley; 1984.
224. Gispets J, Cardona G, Sola R, Varon C, Salazar F. Central thickness of hydrogel contact lenses as a predictor of success when fitting patients with tear deficiency. *Cont Lens Anterior Eye.* 2002;25:89-94.

- 
225. Guillon M, Maissa C. Dry eye symptomatology of soft contact lens wearers and nonwearers. *Optom Vis Sci.* 2005;82:829-834.
226. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea.* 2004;23:762-770.
227. Begley CG, Caffery B, Chalmers RL, Mitchell GL. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. *Cornea.* 2002;21:664-670.
228. Sato M, Fukayo S, Yano E. Adverse environmental health effects of ultra-low relative humidity indoor air. *J Occup Health.* 2003;45:133-136.
229. Cascos-Maraña CS. *Contribución al estudio de los tipos de tiempo en los veranos de Valladolid* Valladolid: Institución Cultural Simancas; 1982:45.
230. Andersen IB, Lundqvist GR, Proctor DF. Human nasal mucosal function under four controlled humidities. *Am Rev Respir Dis.* 1972;106:438-449.
231. Barry RG, Chorley RG. *Atmósfera, tiempo y clima* Barcelona: Omega; 1978:83.
232. Sriwatanakul K, Kelvie W, Lasagna L, Calimlim JF, Weis OF, Mehta G. Studies with different types of visual analog scales for measurement of pain. *Clin Pharmacol Ther.* 1983;34:234-239.
233. Breivik EK, Bjornsson GA, Skovlund E. A comparison of pain rating scales by sampling from clinical trial data. *Clin J Pain.* 2000;16:22-28.
234. Jensen MP, Chen C, Brugger AM. Postsurgical pain outcome assessment. *Pain.* 2002;99:101-109.
235. Dumbleton K, Keir N, Moezzi A, Feng Y, Jones L, Fonn D. Objective and subjective responses in patients refitted to daily-wear silicone hydrogel contact lenses. *Optom Vis Sci.* 2006;83:758-768.
236. Long B, McNally J. The clinical performance of a silicone hydrogel lens for daily wear in an Asian population. *Eye Contact Lens.* 2006;32:65-71.
237. Dillehay SM, Miller MB. Performance of Lotrafilcon B silicone hydrogel contact lenses in experienced low-Dk/t daily lens wearers. *Eye Contact Lens.* 2007;33:272-277.
238. Brennan NA, Coles ML, Comstock TL, Levy B. A 1-year prospective clinical trial of balafilcon a (PureVision) silicone-hydrogel contact lenses used on a 30-day continuous wear schedule. *Ophthalmology.* 2002;109:1172-1177.
239. Schafer J, Mitchell GL, Chalmers RL, et al. The stability of dryness symptoms after refitting with silicone hydrogel contact lenses over 3 years. *Eye Contact Lens.* 2007;33:247-252.
240. Mandell RB, Farrell R. Corneal swelling at low atmospheric oxygen pressures. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1980;19:697-702.



241. Castren J. The significance of low atmospheric pressure on the eyes with reference to soft contact lenses. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1984;161:123-127.
242. Castren J, Tuovinen E, Lansimies E, Stenborg T, Aho J, Nedrum K. Contact lenses in hypoxia. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1985;63:439-442.
243. Hapnes R. Soft contact lenses worn at a simulated altitude of 18 000 feet. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1980;58:90-95.
244. Clarke C. Contact lenses at high altitude: experience on Everest south-west face 1975. *Br J Ophthalmol.* 1976;60:479-480.
245. Elliott M, Fandrich H, Simpson T, Fonn D. Analysis of the repeatability of tear break-up time measurement techniques on asymptomatic subjects before, during and after contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye.* 1998;21:98-103.
246. Paschides CA, Stefaniotou M, Papageorgiou J, Skourtis P, Psilas K. Ocular surface and environmental changes. *Acta Ophthalmol Scand.* 1998;76:74-77.
247. Papas EB, Vajdic CM, Austen R, Holden BA. High-oxygen-transmissibility soft contact lenses do not induce limbal hyperaemia. *Curr Eye Res.* 1997;16:942-948.
248. Glasson MJ, Stapleton F, Keay L, Sweeney D, Willcox MD. Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:5116-5124.
249. Maldonado-Codina C, Morgan PB, Schnider CM, Efron N. Short-term physiologic response in neophyte subjects fitted with hydrogel and silicone hydrogel contact lenses. *Optom Vis Sci.* 2004;81:911-921.
250. Dogru M, Stern ME, Smith JA, Foulks GN, Lemp MA, Tsubota K. Changing trends in the definition and diagnosis of dry eyes. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:507-508.
251. Saleh TA, McDermott B, Bates AK, Ewings P. Phenol red thread test vs Schirmer's test: a comparative study. *Eye.* 2006;20:913-915.
252. Cho P. The cotton thread test: a brief review and a clinical study of its reliability on Hong Kong-Chinese. *Optom Vis Sci.* 1993;70:804-808.
253. van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1969;82:10-14.
254. Avisar R, Menache R, Shaked P, Rubinstein J, Machtey I, Savir H. Lysozyme content of tears in patients with Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Am J Ophthalmol.* 1979;87:148-151.
255. Ng V, Cho P, Mak S, Lee A. Variability of tear protein levels in normal young adults: between-day variation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000;238:892-899.
256. Geerling G, Honnicke K, Schroder C, et al. Quality of salivary tears following autologous submandibular gland transplantation for severe dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1999;237:546-553.

- 
257. Cedarstaff TH, Tomlinson A. A comparative study of tear evaporation rates and water content of soft contact lenses. *Am J Optom Physiol Opt.* 1983;60:167-174.
  258. Gonzalez-Meijome JM, Lopez-Aleman A, Almeida JB, Parafita MA, Refojo MF. Qualitative and quantitative characterization of the in vitro dehydration process of hydrogel contact lenses. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;83:512-526.
  259. Jones L, May C, Nazar L, Simpson T. In vitro evaluation of the dehydration characteristics of silicone hydrogel and conventional hydrogel contact lens materials. *Cont Lens Anterior Eye.* 2002;25:147-156.
  260. Morgan PB, Efron N. In vivo dehydration of silicone hydrogel contact lenses. *Eye Contact Lens.* 2003;29:173-176.
  261. Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:4302-4311.
  262. Li W, Hayashida Y, Chen YT, et al. Air exposure induced squamous metaplasia of human limbal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:154-162.

***X. ANEXO I***

---



# Exposure to a Controlled Adverse Environment Impairs the Ocular Surface of Subjects with Minimally Symptomatic Dry Eye

Maria J. González-García,<sup>1</sup> Arancha González-Sáiz,<sup>1</sup> Beatriz de la Fuente,<sup>2</sup> Antonio Morilla-Grasa,<sup>1</sup> Agustín Mayo-Isacar,<sup>3</sup> Julio San-José,<sup>2</sup> Jesús Feijó,<sup>2</sup> Michael E. Stern,<sup>4</sup> and Margarita Calonge<sup>1</sup>

**PURPOSE.** Adverse environmental conditions elicit dry eye (DE)-related signs and symptoms. The purpose of this work is to determine whether these conditions can alter a normal-to-borderline ocular surface in subjects with DE symptoms.

**METHODS.** Ten minimally symptomatic contact lens (CL)-wearing subjects were exposed, without (WO-) and with (W-) CLs, to a controlled adverse environment (CAE) of  $22.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$  and  $19.0\% \pm 4.0\%$  relative humidity (RH) for 2 hours in an environmental chamber (EC). One month later, the same subjects were placed in an indoor normal environment (INE) of  $24.2 \pm 1.3^\circ\text{C}$  and  $34.8\% \pm 2.9\%$  RH for 2 hours. DE-related signs and symptoms were evaluated before and after each exposure. The reversibility of changes provoked by CAE or INE was also evaluated.

**RESULTS.** Without CL wear, significant changes were found in DE signs (noninvasive tear break-up time [NIBUT], conjunctival hyperemia and phenol red thread test) after CAE exposure, but not found after INE exposure. However with CL wear, the same tests were altered after both CAE and INE exposure. Most of these changes returned to normal values within 1 month after environmental exposure.

**CONCLUSIONS.** Significant changes in comfort and the ocular surface tests were found after 2 hours of exposure to CAE. These results show the negative impact that an adverse environment, especially low RH, can have on the ocular surface. These alterations were fully reversible. This indicates that the CAE is a safe and functional condition in which to standardize DE diagnostic tests and evaluate therapeutics. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4026–4032) DOI:10.1167/iovs.06-0817

From the <sup>1</sup>Ocular Surface Group, Institute of Applied Ophthalmology (IOBA), the <sup>2</sup>School of Architecture, and the <sup>3</sup>Department of Statistics and Operative Research, University of Valladolid, Valladolid, Spain; and the <sup>4</sup>Division of Biological Sciences, Allergan, Inc., Irvine, California.

Presented at the annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Fort Lauderdale, Florida, May 2003 and April 2004.

Supported by Grant FEDER-CICYT: MAT2004-03484-CO2-02, Ministry of Education, Spain.

Submitted for publication July 17, 2006; revised December 22, 2006, and May 7, 2007; accepted June 18, 2007.

Disclosure: **M.J. González-García**, None; **A. González-Sáiz**, None; **B. de la Fuente**, None; **A. Morilla-Grasa**, None; **A. Mayo Isacar**, None; **J. San-José**, None; **J. Feijó**, None; **M.E. Stern**, Allergan, Inc. (E); **M. Calonge** Allergan, Inc. (C)

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. §1734 solely to indicate this fact.

Corresponding author: María J. González-García, IOBA-University of Valladolid, Ramón y Cajal 7, Valladolid E-47005, Spain; aluche@ioba.med.uva.es.

Adverse environmental conditions such as excessive heat, wind, or low humidity elicit dry eye (DE)-related signs and symptoms.<sup>1,2</sup> These environments exist throughout the world, especially in those regions with arid or semiarid climates and warm weather. Moreover, millions of individuals are exposed to these conditions in artificially controlled environments such as air-conditioned or artificially heated rooms, vehicles, and airplane cabins. These conditions can affect the occupants and interfere with daily living and working activities and have given rise to the descriptive term sick-building syndrome.<sup>3,4</sup> In addition, reading or computer use can further worsen those situations.<sup>5,6</sup>

To understand the way that environment affects the ocular surface and provokes signs and symptoms of DE, it is necessary to control exposure conditions such as humidity, temperature, air flow, and pollutants. Environmental chambers (ECs) have been used to create controlled environments to evaluate subject responses to a determined stimulus. An example is the assessment of antiallergic drug effectiveness in subjects exposed to a controlled allergen charge.<sup>7–9</sup> Studies that show the influence on the ocular surface of irritating factors such as cigarette smoke,<sup>10</sup> dust,<sup>11</sup> or topically instilled topical drugs<sup>12</sup> have also been performed in ECs.

Controlled adverse environments (CAEs) created with ECs have been used to develop animal models of DE.<sup>13,14</sup> CAEs can improve the design of clinical trials and have been used to study the effects of DE therapeutics<sup>1,15</sup> and to evaluate the effect of contact lens (CL) wear on the ocular surface.<sup>16,17</sup>

The purpose of this study was threefold. First, we determined whether a CAE adversely affects the normal-to-borderline ocular surface of young, healthy persons with symptoms induced by CL wear. Second, we evaluated the possible negative impact of CL wear in a CAE. Third, we determined whether the alterations of the ocular surface were reversed after cessation of adverse environment exposure. The results from the CAE were then compared to results of similar exposure of the same subjects to an indoor normal environment (INE).

## MATERIALS AND METHODS

### Subject Enrollment

Because individuals having only mild and occasional DE-related symptoms were the subjects of this study, we elected to enroll only young and healthy individuals who had developed minimal DE-related signs and/or symptoms as a consequence of CL use, and who were symptomatic only when the CLs were in place. Ten young individuals with myopia were enrolled in the study. The criteria for selecting well-qualified subjects and rejecting others ensured that the subjects were healthy, experienced CL wearers, with minimal symptoms of DE that occurred only while wearing CLs. In addition, the subjects must have had results within normal limits in at least three of the following five DE tests: tear film break-up time (T-BUT), >10 seconds<sup>18</sup>; negative

TABLE 1. Protocol of Visits and Tests

Visit	Evaluation	Evaluation Description	Tests Performed						
			DE-Related Symptoms	NIBUT	Conjunctival Hyperemia	Phenol Red Thread Test	Fluorescein Staining	Tear Lysozyme	Schirmer Test
V1	E1	Pre-CAE WO-CL	X	X	X	X	X		
	E2	Post-CAE WO-CL	X	X	X	X	X	X	X
V2	E3	Pre-CL wear	X	X	X	X	X		
	E4	Pre-CAE W-CL	X	X	X				
V3	E5	Post-CAE W-CL	X	X	X	X	X	X	X
	E6	Pre-INE WO-CL	X	X	X	X	X		
V4	E7	Post-INE WO-CL	X	X	X	X	X	X	X
	E8	Pre-CL wear	X	X	X	X	X		
	E9	Pre-INE W-CL	X	X	X				
	E10	Post-INE W-CL	X	X	X	X	X	X	X

CAE ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , RH  $19\% \pm 4\%$ ); INE ( $24.2 \pm 1.3^\circ\text{C}$ , RH  $34.8\% \pm 2.9\%$ ).

fluorescein corneal staining<sup>19</sup>; negative rose bengal conjunctival staining<sup>20</sup>; Schirmer test with anesthesia,  $>5$  mm in 5 minutes<sup>21</sup>; and tear lysozyme concentration,  $>1000$   $\mu\text{g/mL}$ .<sup>22,23</sup>

The nature of the research and protocols was explained to the subjects before written informed consent was obtained during the screening visit. The study complied with the tenets of the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Institutional Review Board of the University of Valladolid.

## Environmental Conditions

Subjects were exposed to two different environment conditions that differed principally in relative humidity (RH).

**Controlled Adverse Environment.** Individuals were subjected to a controlled adverse environment (CAE) in an EC located in the Environmental Laboratory (School of Architecture, University of Valladolid). The EC is an isolated room 4.6 m wide, 5.8 m deep, and 2.5 m high. Two of the walls and the roof of the EC are made of plaster board. The other two walls are made of double-paned windows, to facilitate observing the interior of the chamber from the outside. The floor is made of wood covered with linoleum. The EC was equipped with a closed air circulation system consisting of a circular duct with propellant and return vents. Temperature and RH could be precisely controlled between  $20^\circ\text{C}$  and  $30^\circ\text{C}$  and RH from 15% to 80%, with a 10% tolerance. For temperature control, the EC air conditioning system (SDH 105, TD Saunier-Duval; Valliant, Remscheid, Germany) had a cooling capacity of 10.20 kW and a heating capacity of 11.6 kW. The RH was reduced by using the indoor coil of the air conditioning system to condense the water vapor in the air. A more stable control of RH was achieved with a 1.13-kW and 1.5-kg/h humidifier (Humisteam UE001PD000; Carel, Padova, Italy). Control the EC conditions was carefully supervised during the entire duration of the experiments, with two portable devices used to measure temperature and humidity (635 and 645; Testo, Lenzkirch, Germany) located inside the EC. For this study, the temperature was set at  $22^\circ\text{C}$  and the RH was 20%. The temperature and RH were recorded at the beginning, in the middle, and at the end of each experiment, and the mean values ( $\pm$  SEM) were  $22.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$  and  $19.0\% \pm 4.0\%$ , respectively. There was no air flow, and the subjects read throughout each experiment, so that they were constantly engaged in visual activity. They were exposed to these conditions for 2 hours. We chose these conditions based on studies reported in abstract form (Ousler GW et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 80; Kellerman DJ et al. *IOVS* 2004;45:ARVO E-Abstract 3892) which had a CAE of RH  $<10\%$  for 90 minutes. We chose a less extreme, more commonly experienced RH of 20%, and a duration of 2 hours.

**Indoor Normal Environment.** Four weeks after exposure to a CAE, individuals were subjected to an indoor normal environment (INE). This real-life environment was located in a room in one of the

University libraries. For 2 hours, the subjects did the same kind of reading activity as during the CAE exposure. The temperature and RH were measured at two different places inside the room with a weather station (EMR812GHN; Oregon Scientific, Tualatin, OR) at 9 AM, 1 PM, and 6 PM. The mean temperature and RH were  $24.2 \pm 1.3^\circ\text{C}$  and  $34.8\% \pm 2.9\%$ , respectively. As the whole experiment was held during winter, the environment in the library was artificially heated and had no air flow.

## Tests Performed

The following examinations were performed in the following sequence and as outlined in Table 1.

**DE-Related Symptomatology.** Comfort was rated on a scale of 0 to 10 by subjects answering a 100-mm vertical visual analogue scale<sup>24,25</sup> on which 0 indicated extreme discomfort and 10 extreme comfort. For evaluation of DE-related symptoms, the symptoms of discomfort questionnaire (SODQ) was answered by each individual. Symptoms such as dryness, a sandy or gritty feeling, burning or stinging, pain, itching, sensitivity to light, and blurred vision were graded on a scale of 0 to 4. The total score was derived from the addition of partial scores of each symptom.

**Noninvasive Tear Break-Up Time.** A device for assessing tear film (Tearscope Plus; Keeler, Windsor, UK) was used to measure noninvasive tear break-up time (NIBUT). The mean of three measurements was recorded,<sup>26</sup> and times of 10 seconds or less were considered abnormal.<sup>27</sup>

**Bulbar and Limbal Conjunctival Hyperemia.** Bulbar conjunctival and limbal hyperemia were evaluated with a slit lamp (SL-8Z; Topcon Corp., Tokyo, Japan) on a 0.1 decimalized scale (range, 0–4).<sup>19</sup> Redness of 2.6 or greater was considered abnormal.<sup>28</sup>

**Phenol Red Thread Test.** The phenol red thread test (Zone Quick Test; Menicon Co., Ltd., Nagoya, Japan) was placed in the recommended position over the lateral canthus and read 15 seconds after placement.<sup>29</sup> Values of 20 mm or below were considered abnormal.<sup>30</sup>

**Tear Break-up Time.** For tear break-up time (T-BUT) measurements, fluorescein strips previously wetted with 0.9% sodium chloride (NaCl 0.9% 10 mL; B/Braun, Barcelona, Spain) were gently applied to the inferior fornix. T-BUT was measured after three blinks, and the mean of three measurements was recorded.<sup>31</sup> Values of 10 seconds or below were considered abnormal.<sup>18</sup>

**Corneal and Conjunctival Vital Staining.** Corneal fluorescein staining was evaluated with fluorescein strips (Fluorets; Chauvin, Aubenas, France). After they were wetted with 0.9% sodium chloride, they were gently applied to the inferior fornix. The cornea was divided into five regions (central, superior, inferior, nasal, and temporal), and

each region was graded on a 0.1 decimalized scale (range, 0–4).<sup>19</sup> The scores of each area were added to arrive at a final grade. Evaluation of conjunctival staining was similarly scored,<sup>19</sup> except that it was divided in four regions (superior, inferior, nasal, and temporal).

For rose bengal conjunctival staining, rose bengal strips (Akorn, Inc., Buffalo Grove, IL) were wetted with one drop of 0.9% sodium chloride and gently applied to the inferior fornix. For grading, the Oxford scheme was used.<sup>20</sup> Rose bengal staining was used only during the screening visit, to avoid interference with the CLs that had to be inserted in some of the visits. Any staining with fluorescein or rose bengal was considered abnormal.

**Tear Lysozyme Concentration.** This test was chosen as a marker of aqueous-deficient DE<sup>22</sup> and is routinely performed in the clinical units of our institution. Sampling of tears was taken by gently applying a 5-mm diameter filter paper disc in the inferior conjunctival cul-de-sac of both eyes for 1 minute with eyes closed. Samples were kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  until processed. To determine tear lysozyme concentration, the *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC 4698, M3770; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) agar diffusion assay<sup>32</sup> in Mueller Hinton agar plates (Bio Merieux, Marcy l'Etoile, France) was used. Each filter paper was left in the plate with the *Micrococcus lysodeikticus* (inocula was  $2 \times 10^6$  CFU/mL) suspension gel, and the inhibition halus was measured after 24 hours. To calculate the lysozyme concentration, a standard curve was obtained by using the same disks wetted with 10,000, 1,000, 100, and 10  $\mu\text{g/mL}$  of lysozyme (ATCC 4698, L6876; Sigma-Aldrich) diluted in phosphate-buffered saline (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA). Values of 1000  $\mu\text{g/mL}$  or below were considered abnormal.<sup>22,23</sup>

**Schirmer Test.** One drop of topical anesthetic (0.5% tetracaine chlorhydrate and 0.5% oxybuprocaine chlorhydrate; Colircusí Anestésico Doble; Alcon-Cusí, Barcelona, Spain) was instilled in the inferior fornix. After 2 minutes, excess tears were removed by applying the tip of a tissue to the inferior cul-de-sac. One sterile strip (Schirmer Tear Test Strips,  $5 \times 35$  mm; Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX) was placed in the lateral canthus of the inferior lid margin of both eyes,<sup>33</sup> and the subjects were asked to maintain closed eyes during the test. The length of wetting was measured in millimeters after 5 minutes. Results of 5-mm length or less were considered abnormal.<sup>21</sup>

## Study Protocol

Once enrolled in the study, each subject attended four visits (V1–V4) and 10 evaluations (E1–E10). Table 1 lists the tests performed at each visit and evaluation. The subjects were evaluated just before and after being exposed to the CAE (V1 and V2) or INE (V3 and V4). In both environments, they were evaluated without (WO)-CLs (V1 and V3) or with (W)-soft CLs (Focus Visitint, Vifilcon A, ionic, 55% water content; Ciba Vision, Duluth, GA) that were bilaterally fitted (V2 and V4). CL visits (V2 and V4) were performed 4 to 7 days after no-CL visits (V1 and V3, respectively), and INE visits (V3 and V4) took place 30 days after CAE visits (V1 and V2, respectively).

For V1 and V2 (CAE exposure), ocular examinations were performed at the Environmental Laboratory just beneath the entrance of the EC. For V3 and V4 (INE exposure), ocular examinations were performed at the IOBA clinical units, located near the library room used for exposing subjects to the INE. Subjects were asked to discontinue their CL use at least 24 hours before each visit. Tests were performed (E1, E3, E6, and E8; Table 1), and eyes were rinsed with 0.9% sodium chloride and left untouched for 30 minutes. For CL visits, immediately after rinsing, CLs were inserted, and after an interval of 30 minutes, some tests were performed (E4, E9, Table 1). Subjects then entered the controlled environment (CAE or INE) and remained inside for 2 hours. Immediately after exposure, subjects were again evaluated (E2, E5, E7, and E10; Table 1); examination was completed within 10 minutes of the end of the exposure. To study variations in perceptions of comfort, whereas inside the EC, each subject was asked to self-evaluate his or her comfort level after 1 hour of CAE exposure.

The sample size was established to detect differences below 2 seconds (over baseline conditions) in NIBUT and 3 mm in the Schirmer test. Toward this goal, information about variability of these tests,<sup>34</sup> along with a hypothesis relative to the estimated gain in power due to the paired nature of this study design was used.

## Statistical Analysis

Results are expressed as the mean  $\pm$  SEM. The geometric mean was added for those variables in which log-transform was used (NIBUT and tear lysozyme concentration) with the intention of gaining interpretability by recovering the usual scale. The geometric mean is reoriented as  $e^{\text{mean}(\ln(x))}$ .

When a test was performed in both eyes, the mean of the two measurements was used in the statistical analysis.

Among the available methods to analyze data, with some ordinal measures, the ones in the parametric family were chosen, due to the belief that all the variables measured in this study (in case of NIBUT and tear lysozyme concentration after log transform) supports the hypothesis: for three values  $x$ ,  $y$ , and  $z$ , the change in magnitude between  $x$  and  $x + z$  is clinically comparable to the difference between  $y$  and  $y + z$ .

Assuming this hypothesis being true, it makes sense to add data from different subjects, and in this situation, a high-efficiency summary for the location of the observed values in the sample is the mean, and the SEM can be used as a measure of the estimated error.<sup>35–39</sup> The use of this methodology necessarily assumes that the above mentioned hypothesis is true. In addition, parametric procedures for comparison of the means are quite robust with normality deviations, except when they are due to heavy tailed<sup>40</sup> which is not the present case.

In the framework of a repeated-measures analysis, a multiple-comparison method based on Tukey's theory was applied, to test the difference between evaluations (E1–E10). The Mauchly test and epsilon estimate were performed to verify the sphericity condition. NIBUT and the tear lysozyme concentration met this condition after a logarithmic transformation was performed. For variables that appeared with evidence of a sphericity hypothesis violation, a separate variance estimation in a multiple-comparison procedure was used.

$P \leq 0.05$  was considered to show statistical significance.

## RESULTS

### Screening Visit (V0)

Three men and seven women with a mean age of  $25.2 \pm 0.9$  years (range, 22–34) were recruited. Mean myopia of the group was  $-3.6 \pm 0.2$  D (range,  $-1.50$  to  $-5.75$ ). They had worn their CLs for a mean of  $4.9 \pm 0.5$  years (range, 3–8) and had a wearing schedule of  $8.6 \pm 0.5$  h/d (range, 6–12). Screening evaluation results were within the inclusion criteria (SODQ:  $0.76 \pm 0.09$ ; T-BUT:  $10.1 \pm 1.0$ ; corneal fluorescein staining:  $0.1 \pm 0.05$ ; rose bengal staining:  $0.2 \pm 0.08$ ; tear lysozyme concentration:  $7.88 (2657.71) \pm 0.10$   $\mu\text{g/mL}$ ; Schirmer test with anesthesia:  $13.5 \pm 1.8$  mm). All subjects were asymptomatic while not wearing CLs, and dryness was reported by all subjects only while wearing CLs, in accordance with the inclusion criterion.

### Environmental Exposure-Induced Changes

Initial baseline values (E1, E3, E6, and E8) of all variables were within the clinically normal range. To evaluate the influence of exposure to the CAE or the INE, means of the variables evaluated before exposure (E1, E3, E6, and E8) and after exposure (E2, E5, E7, and E10) were compared (Table 2).

When subjects were inside the CAE, their comfort was evaluated at 1 and 2 hours (Fig. 1, Table 2). For CAE exposure without CL, there were no significant changes after 1 or 2 hours. However, when CLs were in place, there was a constant



TABLE 2. Results of the Different Visits

Visit	Comfort	SODQ	NIBUT	Bulbar Hyperemia	Limbal Hyperemia	Phenol Red Thread Test	Corneal FS	Conjunctival FS	Tear Lysozyme Concentration	Schirmer Test
V0 (Screening)	—	—	—	—	—	—	—	—	7.88 (2657.71) ± 0.10	13.5 ± 1.8
V1 (CAE WO-CL)	8.5 ± 0.4	0.6 ± 0.2 <sup>aE5</sup>	2.43 (11.34) ± 0.13 <sup>aE2</sup>	1.8 ± 0.04	1.6 ± 0.04 <sup>aE2</sup>	25.8 ± 1.9 <sup>aE2</sup>	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.3 <sup>aE2</sup>	—	—
E1	7.7 ± 0.5	1.9 ± 1.0	2.18 (8.31) ± 0.10	1.9 ± 0.06	1.7 ± 0.03	22.3 ± 2.3	0.9 ± 0.3	1.3 ± 0.4	7.90 (2707.35) ± 0.18	18.2 ± 2.8
V2 (CAE W-CL)	9.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	2.11 (8.24) ± 0.10	1.8 ± 0.07	1.6 ± 0.08	22.8 ± 2.2	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.3	—	—
E3	9.0 ± 0.2 <sup>aE5</sup>	0.6 ± 0.2	1.57 (4.80) ± 0.08 <sup>aE9</sup>	1.8 ± 0.06 <sup>aE5</sup>	1.7 ± 0.05 <sup>aE5,aE9</sup>	—	—	—	—	—
E4	8.0 ± 0.3	1.0 ± 0.3	1.59 (4.90) ± 0.08	1.9 ± 0.09	1.9 ± 0.11	18.9 ± 1.7	0.6 ± 0.2	1.8 ± 0.5	7.90 (2707.78) ± 0.16	15.2 ± 2.8
V3 (INE WO-CL)	9.0 ± 0.3	0.4 ± 0.2	2.46 (11.70) ± 0.08	1.9 ± 0.05	1.6 ± 0.06 <sup>aE8</sup>	23.6 ± 2.3	0.3 ± 0.1	0.0 ± 0.0	—	—
E6	8.8 ± 0.3	0.5 ± 0.3	2.52 (12.42) ± 0.11	1.9 ± 0.06	1.7 ± 0.07	22.6 ± 2.1	0.4 ± 0.2	0.0 ± 0.0	7.88 (2635.71) ± 0.16	15.4 ± 2.8
V4 (INE W-CL)	9.2 ± 0.2	0.4 ± 0.2	2.51 (12.31) ± 0.10	1.8 ± 0.06	1.5 ± 0.06	24.1 ± 1.4 <sup>aE10</sup>	0.7 ± 0.3	0.1 ± 0.1	—	—
E8	8.8 ± 0.3	0.6 ± 0.3	1.88 (6.53) ± 0.08	1.8 ± 0.06 <sup>aE10</sup>	1.5 ± 0.07 <sup>aE10</sup>	—	—	—	—	—
E9	8.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.67 (5.34) ± 0.10	1.9 ± 0.08	1.7 ± 0.09	18.5 ± 1.5	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	7.81 (2457.44) ± 0.14	15.8 ± 3.0

All data are expressed as the mean ± SEM, except for NIBUT and tear lysozyme concentration, for which data are expressed as the logarithmic function ± SEM, and the geometric means are in parentheses as a reference. CAE (22 ± 2°C, RH 19% ± 4%); INE (24.2 ± 1.3°C, RH 34.8% ± 2.9%); FS, fluorescein staining.

\* Significant differences ( $P < 0.05$ ) between different evaluations. The evaluations where a significant difference have been found are indicated in superscript.

† Significant differences ( $P < 0.05$ ) induced by CL wearing in CAE (difference between E2-E1 and E5-E4) or INE (difference between E7-E6 and E10-E9).

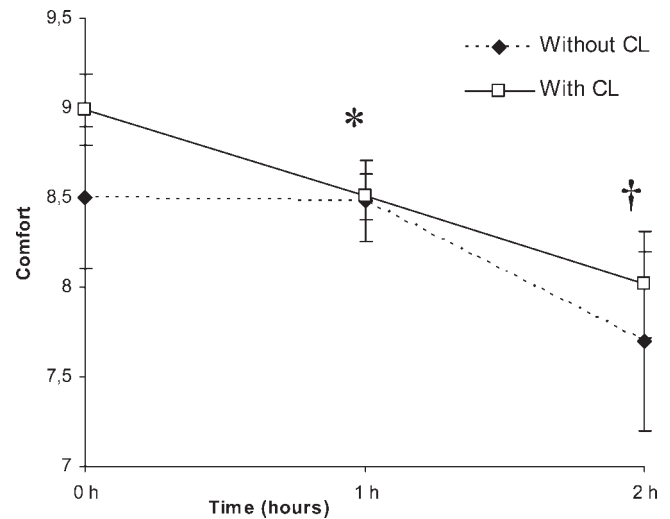


FIGURE 1. Changes in comfort during 2 hours of CAE exposure. \* $P < 0.05$  between 0 and 1 hour with CL. † $P < 0.05$  between 1 and 2 hours with CL.

and significant decrease (Fig. 1) with a decrease between the initial value and 1 hour of  $0.47 \pm 0.10$  ( $P < 0.05$ ) and between 1 and 2 hours of  $0.49 \pm 0.14$  ( $P < 0.05$ ). There were no significant changes in comfort after INE exposure.

Evaluation showed that the symptoms tended to increase at each visit, but they did not reach significance in any of the conditions studied. NIBUT decreased significantly ( $P < 0.05$ , Table 2) in the CAE without CLs (E2), but not with CLs (E5). Exposure to the INE had no consequences. There were significant increases for both bulbar and limbal hyperemia in the CAE and INE conditions with CLs (E5 and E10); however, without CLs, the only significant increase was for limbal hyperemia for CAE conditions (E2). Values of the phenol red thread test tended to decrease in all situations. Significant decreases occurred in CAE conditions without CLs (E2) and in INE conditions with CLs (E10). There were no significant changes in corneal fluorescein staining. Conjunctival fluorescein staining increased significantly without CL wear in the CAE (E2). Tear lysozyme concentrations and Schirmer test results did not change significantly after 2 hours of exposure to the CAE or the INE, either without (E2, E7) or with (E5, E10) CL wear.

### Effect of Wearing CLs

To evaluate the effect of CL wear in CAE and INE conditions, differences between pre- and postevaluations without CL (CAE E2-E1 and INE E7-E6) were compared with differences between pre- and postvisits with CLs (CAE E5-E4 and INE E10-E9). NIBUT demonstrated a higher decrease without than with CLs in the CAE (difference not found in the INE), and the phenol red thread test showed a higher decrease with CLs than without them, in both CAE and INE situations (Table 2).

### Short- and Long-Term Recovery

The reversibility of changes provoked by CAE or INE exposure was studied, to evaluate the safety of the environmental conditions used. To do this, a short-term recovery was defined as the absence of significant changes 4 to 7 days after CAE exposure between E1 and E3 (CAE WO-CL) or after INE exposure between E6 and E8 (INE WO-CL). For CAE, long-term recovery (5 weeks) was defined as the absence of changes between E1 and E6 (CAE WO-CL) or E4 and E9 (CAE W-CL).



The short-term recovery analysis for CAE conditions without CLs (E1, E3; Table 2) showed that symptoms improved 4 to 7 days after exposure, and for INE conditions without CLs, limbal hyperemia significantly improved (E6, E8; Table 2). The long-term recovery analysis after CAE exposure also showed that ocular surface had almost completely returned to the previous values. Thus, 30 days after going through CAE, either with or without CL, values were similar or even better than at the outset. NIBUT and limbal hyperemia with CL improved significantly (E4, E9; Table 2).

## DISCUSSION

The purpose of this study was to determine whether the RH differences between the CAE (20% RH) and INE (35% RH) could affect the ocular surface health of CL wearers who had minimal symptoms of DE. We demonstrated that a normal-to-borderline ocular surface can be negatively affected by CAE conditions lasting for as short as 2 hours, and that CL can induce similar changes on the ocular surface, even in INE conditions. The reversibility of the altered characteristics indicated that, at least in these conditions, no disease was induced in these subjects.

In this study, we evaluated the influence that variations in RH can have on the ocular surface of humans, maintaining nearly constant the other variables that can influence the results such as temperature, air flow, and visual tasks. Though the relationship is not exactly linear, RH levels vary inversely with temperature<sup>41</sup> when water vapor remains constant. We analyzed the influence of 19.0% RH in the CAE and 34.8 RH in the INE on the ocular surface while maintaining similar temperature, 22.0°C for the CAE and 24.2°C for the INE. Thus, findings are mainly attributed to the differences in RH.

Morgan et al.<sup>17</sup> found no changes in the dehydration of CL or comfort in subjects exposed to different RH and temperature levels. However, they used low levels of RH in conjunction with high temperatures (5% RH at 30°C) and high RH with low temperatures (90% RH at 5°C). Thus, their conditions were not comparable to ours. Maruyama et al.<sup>16</sup> used low RH at low temperatures and high RH at high temperatures (10% RH at 5°C and 50% RH at 35°C). When the two variables were changed simultaneously, the effects of RH changes alone were unclear. Nevertheless, the changes they found in NIBUTs, interference patterns, and dryness symptoms support our findings that low RH increases DE signs and symptoms.

The subjective responses of individuals were evaluated with the comfort-based visual analog scale and the symptoms-based SODQ so as to avoid missing symptoms due to the difference in the way individuals express themselves. The results obtained in comfort and symptoms scores differed from one another. While comfort was decreased in the CAE with CLs, there were no changes in symptoms. These results can be explained in two ways. First, both tests evaluated different parts of the subjective response, as subjects may interpret words as "comfort" or "dryness" as different sensations. Second, comfort and symptoms were measured in different ways. Comfort was assessed with a 0-to-10 visual analog scale that was more sensitive than the 0-to-4 verbal scale used to assess symptoms.<sup>42-44</sup>

The fact that there was no significant decrease in comfort after 2 hours of CAE exposure without CLs could indicate that further studies with these conditions should be longer. However, comfort with CLs decreased during the first hour, indicating that this variable is more affected by CL wear; therefore, we conclude that studies with CLs could be of shorter duration.

NIBUT was performed to assess tear film stability instead of T-BUT used in the screening visit because it permitted us to

evaluate tear film behavior on the surface of the CLs. Without CLs, tear film stability was negatively affected after 2 hours of CAE exposure, in agreement with other authors.<sup>2,45,46</sup> Maruyama et al.<sup>16</sup> observed no changes in NIBUT without CLs when subjects were exposed to CAE for 15 minutes. This short exposure probably explains the difference between their results and ours. In our study, NIBUT was not influenced when CLs were on. Thus, the CL may protect the ocular surface from external changes for a short period. Nilsson and Andersson<sup>47</sup> found a decrease in T-BUT in CL wearers when RH was below 31% in working places and exposure times were longer than 2 hours. However, Maruyama et al.<sup>16</sup> found a decrease in NIBUT when subjects were exposed to low RH when wearing CLs. More work is needed to clarify this discrepancy.

Both limbal hyperemia and conjunctival fluorescein staining increased secondary to exposure to the CAE without CLs, indicating that the ocular surface was altered during the adverse conditions. With CL wear, both the CAE and the INE induced conjunctival hyperemia. Increases in limbal redness has also been found by other investigators,<sup>48,49</sup> and it has been attributed to the local hypoxia that can be induced on the limbal conjunctiva by the edge of the CLs.

Although the Schirmer and tear lysozyme concentration tests are good to evaluate tear production, we did not find any variation with CAE or INE exposure. Possibly the exposure time was too short to show any change in normal-to-borderline subjects; however, there are inconsistent results in the literature related to Schirmer variations in adverse environments. Paschides et al.<sup>46</sup> found a decrease in Schirmer results in subjects living in cities with dry climates; however Muzi et al.<sup>2</sup> did not find any difference in subjects working in so-called sick buildings, defined as air-conditioned buildings in which employees had a high prevalence of irritative symptoms involving the eye and respiratory tract compared with that of subjects working in so-called healthy buildings. Another reason for our findings is that we studied nearly normal subjects. DE subjects can be more affected by CAE, as others have found.<sup>15</sup> The phenol red thread test was the only measure of production that changed after environmental exposure. It decreased in the CAE without CLs, but not in the INE, perhaps because the phenol red thread test is less invasive<sup>29</sup> and detected more subtle changes than did the Schirmer test or tear lysozyme concentration tests. With CL wear, the phenol red thread test decreased in the INE, indicating that the presence of CL in some way alters tear production in a similar way that CAE does.

In general, we found that the CAE affects more negatively a normal-to-borderline ocular surface than the INE. McCulley et al.<sup>50</sup> found that a decrease in RH results in an increase in tear evaporation. The low RH to which subjects were exposed during CAE in our study could have provoked an increase in tear evaporation that led to the changes in signs and symptoms that we observed. Although this possibility seems likely in our experimental conditions, we did not actually measure tear evaporation.

CAE conditions seemed to affect the ocular surface more negatively when no CLs were worn compared with INE conditions in which no change in any variable occurred. These results can be explained by the fact that individuals selected for this study were symptomatic only when CLs were used. This finding means that the presence of a CL produces changes in the ocular surface that provoke those variations, even in normal situations, because the CL itself increases tear evaporation,<sup>51</sup> masking the effect that 2 hours of exposure to CAE could have had on the ocular surface.

The modest change found in some studied variables (i.e., bulbar and limbal hyperemia) although statistically significant, seems to be of little clinical relevance. However, the small differences in humidity between CAE (22 ± 2°C, RH 19% ±

4%) and INE ( $24.2 \pm 1.3^\circ\text{C}$ , RH  $34.8\% \pm 2.9\%$ ) environments, and the short period of exposure time (2 hours) can explain the small variations in hyperemia. It is likely that differences in the variables measured will increase with longer exposure time and/or lower humidity.

Recently, adverse environments with high rates of air flow have been used to create three models of keratoconjunctivitis sicca in mice: transdermal scopolamine patches,<sup>13</sup> controlled low RH,<sup>14</sup> and low RH with abnormally low-blink frequency.<sup>52</sup> The desiccating stresses induce inflammatory responses that are implicated in the pathogenesis of DE disease.<sup>53,54</sup> These animal models can be replicated in humans in a CAE and an EC. Because low RH provokes an increase in tear evaporation that leads to hyperosmolarity of tears,<sup>55</sup> it may be one of the causative factors of inflammation in DE disease.<sup>56</sup>

Our CAE and INE models will permit improvement in the design of clinical trials. DE is one of the most common ocular problems in the general population,<sup>57</sup> but there is a lack of international consensus on diagnosis criteria or clinical test end points.<sup>58</sup> The standardization of CAE and EC conditions will help to produce repeatable outcomes in both clinical and research applications. It will also help to define test end points and to evaluate new diagnostic technologies or therapies.<sup>1</sup>

In conclusion, the present study demonstrated that adverse environmental conditions can alter a normal-to-borderline ocular surface. The wearing of CLs has a similar impact on the ocular surface in the CAE as in the INE, and alterations induced by these environments are reversed after 1 week. Therefore, the conditions recreated in this study can be of further use to standardize ocular surface status in the evaluation of DE diagnostic end points and/or to test new therapies.

## Acknowledgments

The authors thank the Molecular Biology Clinical Laboratory (IOBA) for evaluation of lysozyme samples and Guillermo Calonge (Department of Geography, University of Valladolid) for advice on the study of climatic conditions.

## References

- Abelson MB, Ousler GW 3rd, Nally LA, Emory TB. Dry eye syndromes: diagnosis, clinical trials and pharmaceutical treatment—improving clinical trials. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506:1079–1086.
- Muzi G, dell'Omo M, Abbritti G, Accattoli P, Fiore MC, Gabrielli AR. Objective assessment of ocular and respiratory alterations in employees in a sick building. *Am J Ind Med.* 1998;34:79–88.
- Backman H, Haghighat F. Indoor-air quality and ocular discomfort. *J Am Optom Assoc.* 1999;70:309–316.
- Backman H, Haghighat F. Air quality and ocular discomfort aboard commercial aircraft. *Optometry.* 2000;71:653–656.
- Travers PH, Stanton BA. Office workers and video display terminals: physical, psychological and ergonomic factors. *AAOHN J.* 2002;50:489–493.
- Muzi G, Abbritti G, Accattoli MP, dell'Omo M. Prevalence of irritative symptoms in a nonproblem air-conditioned office building. *Int Arch Occup Environ Health.* 1998;71:372–378.
- Horak F, Jager S, Berger U. Onset and duration of the effects of three antihistamines in current use—astemizole, loratadine and terfenadine forte—studied during prolonged, controlled allergen challenges in volunteers. *J Int Med Res.* 1992;20:422–434.
- Day JH, Buckeridge DL, Clark RH, Briscoe MP, Phillips R. A randomized, double blind, placebo controlled, controlled antigen delivery study of the onset of action of aerosolized triamcinolone acetate nasal spray in subjects with ragweed-induced allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;97:1050–1057.
- Krug N, Hohlfeld JM, Largib M, et al. Validation of an environmental exposure unit for controlled human inhalation studies with grass pollen in patients with seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy.* 2003;33:1667–1674.
- Weber A, Jermini C, Grandjean E. Irritating effects on man of air pollution due to cigarette smoke. *Am J Public Health.* 1976;66:672–676.
- Molhave L, Kjaergaard SK, Attermann J. Effects in the eyes caused by exposure to office dust. *Indoor Air.* 2002;12:165–174.
- Mundorf T, Wilcox KA, Ousler GW 3rd, Welch D, Abelson MB. Evaluation of the comfort of Alphagan P compared with Alphagan in irritated eyes. *Adv Ther.* 2003;20:329–336.
- Dursun D, Wang M, Monroy D, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:632–638.
- Barabino S, Shen L, Chen L, Rashid S, Rolando M, Dana R. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:2766–2771.
- Ousler GW 3rd, Abelson MB, Nally LA, Welch D, Casavant JS. Evaluation of the time to “natural compensation” in normal and dry eye subject populations during exposure to a controlled adverse environment. *Adv Exp Med Biol.* 2002;506:1057–1063.
- Maruyama K, Yokoy N, Takamata A, Kinoshita S. Effect of environmental conditions on tear dynamics in soft contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:2563–2568.
- Morgan P, Efron N, Morgan SL, Little SA. Hydrogel contact lens dehydration in controlled environmental conditions. *Eye Contact Lens.* 2004;30:99–102.
- Lemp MA, Dohlman CH, Kuwabara T, Holly FJ, Carroll JM. Dry eye secondary to mucus deficiency. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1971;75:1223–1227.
- Efron N. Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1998;18:182–186.
- Bron AJ. The Doyné lecture: reflections on the tears. *Eye.* 1997;11:583–602.
- Herreras JM, Perez S, Perez H, Calonge M, Pastor JC. Influence of topical anesthesia on tests diagnostic of blepharitis-associated dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm.* 1997;5:33–41.
- deLuise VP, Tabbara KF. Quantitation of tear lysozyme levels in dry-eye disorders. *Arch Ophthalmol.* 1983;101:634–635.
- Velos P, Cherry PM, Miller D. An improved method for measuring human tear lysozyme concentration. *Arch Ophthalmol.* 1985;103:31–33.
- Acosta MC, Gallar J, Belmonte C. The influence of eye solutions on blinking and ocular comfort at rest and during work at video display terminals. *Exp Eye Res.* 1999;68:663–669.
- La Hood D. Edge shape and comfort of rigid lenses. *Am J Optom Physiol Opt.* 1988;65:613–618.
- Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res.* 1985;4:1–7.
- Mengher LS, Pandher KS, Bron AJ. Non-invasive tear film break-up time: sensitivity and specificity. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1986;64:441–444.
- Murphy PJ, Lau JS, Sim MM, Woods RL. How red is a white eye?—clinical grading of normal conjunctival hyperaemia. *Eye.* 2007;21:633–638.
- Sakamoto R, Bennett ES, Henry VA, et al. The phenol red thread tear test: a cross-cultural study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34:3510–3514.
- 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 Physiol Opt.* 1998;18:471–476.
- 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.* 1993;70:30–38.
- Copeland JR, Lamberts DW, Holly FJ. Investigation of the accuracy of tear lysozyme determination by the quantiplate method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1982;22:103–110.
- Jones LT. The lacrimal secretory system and its treatment. *Am J Ophthalmol.* 1966;62:47–60.
- Gabela-Merino MI, Gonzalez-Garcia MJ, Mayo A, Calonge M. Dry eye signs and symptoms in hydrogel contact lens wearers: relation to smoking habit (in Spanish). *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2003;78:543–548.

35. Raizman M, Rothman J, Maroun F, Rand W. Effect of eye rubbing in signs and symptoms of allergic conjunctivitis in cat-sensitive individuals. *Ophthalmology*. 2000;107:2158-2161.
36. Stewart WC, Kolker AE, Stewart JA, Leech J, Jackson AL. Conjunctival hyperemia in healthy subjects after short-term dosing with latanoprost, bimatoprost and travoprost. *Am J Ophthalmol*. 2003;135:314-320.
37. Dursun D, Akça S, Akova YA, et al. Smoking associated with damage to the lipid layer of the ocular surface. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:1016-1021.
38. Goto E, Dogru M, Fukagawa K, et al. Successful tear lipid layer treatment for refractory dry eye in office workers by low-dose lipid application on the full-length eyelid margin. *Am J Ophthalmol*. 2006;142:264-270.
39. Papas EB. Key factors in the subjective and objective assessment of conjunctival erythema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:687-691.
40. Seber GAF. *Multivariate Observations*. New York: John Wiley; 1984.
41. Barry RG, Chorley RJ. *Atmósfera, Tiempo y Clima*. Barcelona, Spain: Omega; 1978:83.
42. Sriwatanakul K, Kelvie W, Lasagna L, Calimlim JF, Weis OF, Metha G. Studies with different types of visual analogue scales for measurement of pain. *Clin Pharmacol Ther*. 1983;34:234-239.
43. Breivik EK, Bjornsson GA, Skovlund E. A comparison of pain rating scales by sampling from clinical trial data. *Clin J Pain*. 2000;16:22-28.
44. Jensen MP, Chen C, Brugger AM. Postsurgical pain outcome assessment. *Pain*. 2002;99:101-109.
45. Norback D, Lindgren T, Wieslander G. Changes in ocular and nasal signs and symptoms among air crew in relation to air humidification on intercontinental flights. *Scand J Work Environ Health*. 2006;32:138-144.
46. Paschides CA, Stefaniotou M, Papageorgiou J, Skourtis P, Psilas K. Ocular surface and environmental changes. *Acta Ophthalmol Scand*. 1998;76:74-77.
47. Nilsson SE, Andersson L. Contact lens wear in dry environments. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1986;64:221-225.
48. Papas EB, Vajdic CM, Austen R, Holden BA. High-oxygen-transmissibility soft contact lenses do not induce limbal hyperaemia. *Curr Eye Res*. 1997;16:942-948.
49. Glasson MJ, Stapleton F, Keay L, Sweeney D, Willcox MD. Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:5116-5124.
50. McCulley JP, Aronowicz JD, Uchiyama E, Shine WE, Butovich IA. Correlations in change in aqueous tear evaporation with a change in relative humidity and the impact. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:758-760.
51. Cedarstaff TH, Tomlinson A. A comparative study of tear evaporation rates and water content of soft contact lenses. *Am J Optom Physiol Opt*. 1983;60:167-174.
52. Nakamura S, Shibuya M, Nakashima H, Imagawa T, Uehara M, Tsubota K. D-beta-hydroxybutyrate protects against corneal epithelial disorders in a rat dry eye model with jogging board. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:2379-2387.
53. Luo L, Li DQ, Doshi A, Farley W, Corrales RM, Pflugfelder SC. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4293-4301.
54. Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjögren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol*. 2006;176:3950-3957.
55. Mathers WD, Binario G, Petroll M. Ocular water evaporation and the dry eye: a new measuring device. *Cornea*. 1993;12:335-340.
56. Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder S. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4302-4311.
57. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:318-326.
58. Dogru M, Stern ME, Smith JA, Foulks GN, Lemp MA, Tsubota K. Changing trends in the definition and diagnosis of dry eyes. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:507-508.



## ***XI. ANEXO II***

---



Session Date: Monday, May 2

Location: HallB/C

Program Number/Poster Board Number: 2066/B835

Abstract Title: Hydrogel Contact Lens (HCL) Wear in Controlled Adverse Environment (CAE) Conditions

Presentation Time: 11:15 AM - 1:00 PM

Reviewing Code: 142 contact lens - CO

**Author Block:** *M.J. Gonzalez-Garcia<sup>1A</sup>, A.Gonzalez-Saiz<sup>1A</sup>, J.M. Herreras<sup>1A</sup>, A.Mayo<sup>1A</sup>, B.de la Fuente<sup>1B</sup>, J.San Jose<sup>1B</sup>, J.Feijo<sup>1B</sup>, M.E. Stern<sup>2</sup>, M.Calonge<sup>1A</sup>.*

<sup>A</sup> Ocular Surface Group, IOBA, <sup>B</sup> CAE Laboratory, School of Architecture, <sup>1</sup>University of Valladolid, Valladolid, Spain; <sup>2</sup> Biological Sciences, Allergan, Inc., Irvine, CA.

**Keywords:** 472 contact lens, 481 cornea: tears/tear film/dry eye, 474 cornea: clinical science

**Purpose:** Hydrogel contact lenses (HCL) comfort decreases with wearing time, which exacerbate in adverse (ie low humidity) environments. We exposed low and high water content HCL symptomatic wearers to a controlled adverse environment (CAE) to test influence of low humidity on ocular surface health and HCL tolerance.

**Methods:** Ten symptomatic HCL wearers with 2 out of 4 dry eye tests altered were recruited and exposed to CAE ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $20\% \pm 5\%$  humidity, no air flow, reading activity) for 2 h. In visit 1 subjects wore no HCL. In VISIT2, subjects were fitted with LOW water content (silicone hydrogel) HCL. In VISIT3 subjects wore HIGH water content HCL. Visits 2 and 3 was randomised and double masked. Comfort, dry eye symptoms, NIBUT, BUT, bulbar and limbar hyperemia, fluorescein staining, phenol red thread test, Schirmer test and tear lysozyme concentration were evaluated before and after CAE exposure.

**Results:** Significant differences (Student's t test) before and after CAE exposure in the different visits were found (table1).

Table 1: Significant ( $p < 0.05$ ) changes after CAE exposure (mean  $\pm$  difference standard deviation)

	Comfort	Symptoms	Limbal hyperemia	Bulbar hyperemia	Corneal fluorescein staining	Conjunctival fluorescein staining	NIBUT (sec)	Phenol red thread (mm)
Visit 1 (no HCL)	$\downarrow 0.8 \pm 1.6$		$\uparrow 0.09 \pm 0.1$	$\uparrow 0.1 \pm 0.14$			$\downarrow 3.6 \pm 7.6$	$\downarrow 3.5 \pm 5.05$
Visit 2 (low water content HCL)		$\uparrow 1.1 \pm 1.2$	$\uparrow 0.1 \pm 0.2$		$\uparrow 5.6 \pm 3.7$			
Visit 3 (high water content HCL)	$\downarrow 1.0 \pm 0.7$	$\uparrow 0.4 \pm 0.7$	$\uparrow 1.0 \pm 0.7$	$\uparrow 0.5 \pm 0.5$		$\uparrow 1.1 \pm 1.9$		$\downarrow 3.9 \pm 6.2$

In addition, low and high water content HCL behaved similarly in this low humidity environment.

**Conclusions:** Symptoms and signs (conjunctival hyperemia and fluorescein staining) increased and comfort decreased when HCL were worn in CAE. Lens water content made no difference in this type of dry environment. Additionally, even without wearing HCL, low humidity had an impact on ocular surface health.

**Commercial Relationship:** M.J. Gonzalez-Garcia , None; A. Gonzalez-Saiz , None; J.M.

Herreras , None; A. Mayo, None; B. de la Fuente , None; J. San Jose , None; J. Feijo, None; M.E. Stern , Allergan, Inc. E; M. Calonge , None.


**Support:** None.

2005, Copyright by the Association for Research in Vision and Ophthalmology, Inc., all rights reserved. Go to [www.iovs.org](http://www.iovs.org) to access the version of record. For permission to reproduce any abstract, contact the ARVO Office at [arvo@arvo.org](mailto:arvo@arvo.org)





**Program#/Poster#:** 241/B419

**Abstract Title:**  **Environmental Chamber as a Diagnostic Tool for Marginal Dry Eye Sufferers**

**Presentation Start/End Time:** Sunday, Apr 30, 2006, 11:00 AM -12:45 PM

**Location:** Hall B/C

**Reviewing Code:** 166 dry eye disease - CO

**Author Block:** *M.J. Gonzalez-Garcia<sup>1A</sup>, A. Gonzalez-Saiz<sup>1A</sup>, J.M. Herreras<sup>1A</sup>, B. de la Fuente<sup>1B</sup>, J. San José<sup>1B</sup>, J. Feijo<sup>1B</sup>, A. Mayo<sup>1A</sup>, M.E. Stern<sup>2</sup>, M. Calonge<sup>1A</sup>.* <sup>A</sup>IOBA, <sup>B</sup>School of Architecture, <sup>1</sup>University of Valladolid, Valladolid, Spain; <sup>2</sup>Allergan Inc., Irvine, CA.

**Keywords:** 481 cornea: tears/tear film/dry eye, 654 quality of life, 610 ocular irritants

**Purpose:** Adverse environmental conditions (excessive heat, wind, dryness) are known to elicit dry eye (DE)-related symptoms and signs. These environments are seen throughout the world. Additionally, millions of individuals are exposed to these conditions in artificially controlled environments (flights, air-conditioned or artificially heated rooms or vehicles); reading or computer use can further worsen those situations. To elucidate whether these adverse conditions can alter the ocular surface of normal to borderline people, young healthy persons, who were minimally and occasionally symptomatic were subjected to a controlled adverse environment (CAE).

**Methods:** Ten minimally symptomatic subjects (DE-related symptoms only with contact lens wear) were enrolled after 2 days of contact lens discontinuation. To rule out an established DE syndrome, at least 2 out of 4 DE tests had to be within normal limits. Subjects were first exposed to CAE ( $22.0 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $19 \pm 4\%$  humidity, reading activity) in an environmental chamber for 2 hr. One month later, same individuals were exposed to "normal" environmental (NE) conditions ( $24.2 \pm 1.3^\circ\text{C}$ ,  $34.8 \pm 2.9\%$  humidity, reading activity) for 2 hr. Comfort and DE symptoms and signs were evaluated before (0 hr) and after (2 hr) CAE and NE exposure.

**Results:** Significant differences before and after CAE exposure were found in comfort, NIBUT, bulbar and limbal hyperemia and phenol red thread test. After NE exposure a significant decrease in comfort was observed (table1).

	Comfort	Symptoms	NIBUT	Bulbar Hyperemia	Limbal Hyperemia	Phenol Red Thread Test	Corneal Fluorescein staining	Conjunctival fluorescein staining
<b>Controlled Adverse Environment (CAE)</b>								
<b>0hr</b>	$8.5 \pm 1.2$	$0.6 \pm 0.7$	$12.8 \pm 7.0$	$1.8 \pm 0.1$	$1.6 \pm 0.1$	$25.8 \pm 6.6$	$0.7 \pm 0.7$	$0.7 \pm 0.9$
<b>2hr</b>	$7.7 \pm 1.6$	$1.9 \pm 3.0$	$9.2 \pm 5.9$	$1.9 \pm 0.2$	$1.7 \pm 0.1$	$22.3 \pm 8.0$	$0.9 \pm 1.0$	$1.3 \pm 1.5$
<b>Normal environment (NE)</b>								
<b>0hr</b>	$9.0 \pm 1.0$	$0.4 \pm 0.7$	$12.3 \pm 3.8$	$1.9 \pm 0.1$	$1.6 \pm 0.2$	$23.6 \pm 7.3$	$0.3 \pm 0.6$	$0.0 \pm 0.0$
<b>2hr</b>	$8.8 \pm 0.9$	$0.5 \pm 0.8$	$13.4 \pm 6.0$	$1.9 \pm 0.2$	$1.7 \pm 0.2$	$22.6 \pm 6.7$	$0.4 \pm 0.9$	$0.0 \pm 0.0$

Table 1: Symptoms and signs before (0 hr) and after (2 hr) of CAE and NE exposure.

**Conclusions:** Significant changes in comfort and ocular surface tests were found after 2 hr of exposure to CAE. Even during NE conditions, which only supposed a reading activity, subjects became less comfortable. These results show the impact that an adverse environment, specially a low relative humidity, can suppose for the ocular surface. Therefore, an environmental chamber can be a useful diagnostic tool to explore effectiveness of new ocular surface therapies.

**Commercial Relationship:** **M.J. Gonzalez-Garcia**, None; **A. Gonzalez-Saiz**, None; **J.M. Herreras**, None; **B. de la Fuente**, None; **J. San José**, None; **J. Feijo**, None; **A. Mayo**, None; **M.E. Stern**, Allergan Inc., E; **M. Calonge**, Allergan Inc., C.

**Support:** FEDER-CICYT MAT2004-03484-C02. JCyL VA003C05

