



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISIÓN

TESIS DOCTORAL:

**CARACTERIZACIÓN DE LA FUNCIÓN Y
MORFOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS DE
MEIBOMIO EN DISTINTAS POBLACIONES**

**CHARACTERIZATION OF MEIBOMIAN GLAND
FUNCTION AND MORPHOLOGY IN DIFFERENT
POPULATIONS**

Presentada por Andrea Novo Diez para optar al grado de
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dra. María Jesús González García

Dra. Itziar Fernández Martínez

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
BIONOTA.....	7
FINANCIACIÓN	9
ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL.....	11
ABREVIATURAS	13
RESUMEN	15
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. JUSTIFICACIÓN.....	18
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	19
4. CARACTERIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	20
5. EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS EN LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	26
6. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PULSACIÓN TÉRMICA EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES CONTROLADAS	29
7. CONCLUSIONES	35
ÍNDICE DE FIGURAS.....	37
ÍNDICE DE TABLAS.....	41
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	44
1.1. SUPERFICIE OCULAR Y UNIDAD FUNCIONAL LAGRIMAL.....	44
1.2. GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	45
1.3. DISFUNCIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	48
1.4. DIAGNÓSTICO DE LA DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO Y DE LA ENFERMEDAD DE OJO SECO	54
1.5. RELACIÓN ENTRE LA FUNCIÓN Y LA MORFOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	68
1.6. TRATAMIENTO DE LA DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	75
1.7. EFECTO DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES EN LA DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO Y SU TRATAMIENTO	88
CAPÍTULO 2: JUSTIFICACIÓN.....	91
CAPÍTULO 3: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	93
3.1. HIPÓTESIS.....	93

3.2. OBJETIVOS	93
CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	94
4.1 INTERVALOS DE REFERENCIA PARA LA MORFOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO EN SUJETOS SANOS	94
4.1.1. Introducción.....	94
4.1.2. Material y métodos.....	95
4.1.3. Resultados	120
4.1.4. Discusión.....	140
4.1. MORFOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO EN SUJETOS CON ENFERMEDAD DE OJO SECO	154
4.2.1. Introducción.....	154
4.2.2. Material y métodos.....	154
4.2.3. Resultados	157
4.2.4. Discusión.....	167
CAPÍTULO 5: EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS EN LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO	184
5.1. INTRODUCCIÓN	184
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS	185
5.3. RESULTADOS	191
5.4. DISCUSIÓN	201
CAPÍTULO 6: EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PULSACIÓN TÉRMICA EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES CONTROLADAS. ..	214
6.1. INTRODUCCIÓN	214
6.2. MATERIAL Y MÉTODOS	215
6.3. RESULTADOS	229
6.4. DISCUSIÓN	243
CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES	252
LÍNEAS DE FUTURO	253
SUMMARY AND CONCLUSIONS	255
1. INTRODUCTION	255
2. JUSTIFICATION	258
3. HYPOTHESIS AND OBJECTIVES	258
4. CHARACTERIZATION OF THE MEIBOMIAN GLANDS	259

ÍNDICE

5. EFFECT OF HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION ON THE MEIBOMIAN GLANDS	265
6. EFFECT OF THERMAL PULSATION TREATMENT IN PATIENTS WITH MEIBOMIAN GLAND DYSFUNCTION UNDER CONTROLLED ENVIRONMENTAL CONDITIONS.....	268
7. CONCLUSIONS	273
REFERENCIAS	275
IMPACTO DE LA PANDEMIA DE COVID-19 EN LA TESIS DOCTORAL	309
DIFUSIÓN ASOCIADA A LA TESIS DOCTORAL	311

AGRADECIMIENTOS

Han pasado seis años desde que empecé a formar parte del IOBA y ahora me encuentro ante una etapa que se cierra en la que he compartido mucho con las personas de las que me he rodeado en este tiempo y a las que quiero agradecer todo su apoyo en este camino.

En primer lugar, a las directoras de esta tesis doctoral. Gracias María por introducirme en el mundo de la investigación cuando todavía era una estudiante, por haberme acogido en el *Contact Team* como una más desde el primer día y por haberme guiado desde el Trabajo Fin de Grado hasta hoy. Gracias Itziar por unirme al equipo y darle un nuevo enfoque a esta tesis, por toda la estadística que me has enseñado y por hacer siempre magia con nuestros datos. Gracias a ambas por vuestro apoyo en este camino. También quiero dar las gracias al tutor de esta tesis doctoral. Gracias Alberto por completar el equipo, por estar siempre pendiente de nuestros avances y por tu ayuda con la cámara ambiental. Ha sido un gusto trabajar a vuestro lado.

Sé que muchas oportunidades que he tenido en estos años han surgido gracias a pertenecer a un gran grupo de investigación como es el Grupo de Superficie Ocular. Gracias Marga por liderar un grupo tan diverso y magnífico, por tu cercanía y por tu apoyo en esta tesis siempre que lo hemos necesitado. Por supuesto, gracias a todos mis compañeros del *Contact Team*. A los más *seniors* por sus aportaciones en nuestras reuniones, que nos ayudan a tener diferentes puntos de vista. A los más *juniors* por acompañarme en este camino. Con los que empecé, Alberto, Cristina, gracias por enseñarme en los primeros pasos. Con los que llegaron después y me acompañaron viendo pacientes, yendo a congresos o incluso en la docencia. Gracias Pablo, Cristina y Laura. Pero

AGRADECIMIENTOS

sobre todo no puedo dejar de dar las gracias a Marta, con la que he pasado muchas horas en la cámara ambiental y con quien he compartido casi cada paso de esta tesis. Gracias Marta por tu ayuda y tu apoyo en este camino.

No me olvido de todos los compañeros de la biblioteca, los que empezaron conmigo y los que han continuado con el relevo. Gracias por crear un ambiente tan bueno y compartir tantos momentos juntos. También quiero extender estos agradecimientos a todos los miembros del IOBA, por echarme una mano siempre que he necesitado ayuda con el papeleo (gracias, Ana y Paz, por hacer un tándem perfecto), por participar en el reclutamiento de mi tesis, y por vuestra disponibilidad (gracias Charli por todos los favores que te debemos). A la Profesora Diebold quiero agradecerle su dedicación al programa de doctorado. Y al Profesor Pastor, gracias por fundar el IOBA y permitir que podamos hacer investigación en un centro puntero.

Este proceso de tesis doctoral también me ha permitido vivir una experiencia muy importante que fue la estancia de investigación en Colonia, incluso con una pandemia mundial entre medias. *I would like to thank Professor Steven for accepting me into his research group. Thank you Philipp for making me feel a part of your team, for understanding my situation when I decided to come back while the world stopped and for opening the door again. I would also like to thank Jens Horstmann for his help and closeness during my first stay in Cologne. And to the entire Ocular Surface Group of the University Hospital of Cologne, who invited me to experience a different Carnival and to feel like one of them. Vielen Dank und bis bald.*

AGRADECIMIENTOS

Por último, quiero agradecer a todas las personas más cercanas que me han acompañado en este camino. A todos mis amigos que no han dudado en aceptar ser mis conejillos de indias, que han estado pendientes de los progresos de mi tesis y que me han entendido en mis días malos. A mi familia, en especial a mis padres, por creer más en mí que yo misma, por animarme a seguir escalando y no conformarme, y por confiar siempre en que lo conseguiría. A mi hermana, por hacerme reír en cualquier situación y hacerme entrenar mi paciencia. Y a Gonzalo, por estar siempre ahí, por ayudarme a bajar mis niveles de estrés y hacerme sonreír.

BIONOTA

Andrea Novo Diez (7 de marzo de 1994) se graduó en Óptica y Optometría por la Universidad de Valladolid en el año 2016. Durante el último curso académico del Grado en Óptica y Optometría (curso 2015 – 2016) recibió una beca de colaboración en tareas de investigación otorgada por el Consejo Social de la Universidad de Valladolid. Esta beca le permitió incorporarse al Grupo de Superficie Ocular del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) bajo la supervisión de la Profesora María Jesús González y realizar su Trabajo Fin de Grado en el campo de la incomodidad con lentes de contacto. Posteriormente, cursó el Máster de Investigación en Ciencias de la Visión (curso 2017 – 2018), compaginándolo con su trabajo en Alain Afflelou Óptico, completándolo con el Trabajo Fin de Máster también dentro del campo de la incomodidad con lentes de contacto. Finalmente, continuó su formación en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Visión desarrollando su tesis doctoral dentro del campo de la enfermedad de ojo seco y la disfunción de glándulas de Meibomio, gracias a un contrato predoctoral de la Universidad de Valladolid (2019) y a un contrato predoctoral de la Junta de Castilla y León cofinanciado por el Fondo Social Europeo (2019 – 2023).

Durante su formación dentro del programa de doctorado, ha asistido a multitud de cursos de formación dentro y fuera del campo de las ciencias de la visión. Además, cuenta con 6 comunicaciones orales y en póster en congresos internacionales y 15 en congresos nacionales, así como en eventos de divulgación científica. También ha desarrollado actividades de docencia como un proyecto de innovación docente, ha impartido 60 horas de clases teóricas y prácticas en el Grado de Óptica

y Optometría, y ha co-dirigido 6 Trabajos Fin de Grado. Ha publicado 2 artículos científicos como primera autora y ha sido co-autora de 5 publicaciones más. Además, en este periodo ha colaborado en 3 proyectos de investigación clínica y 2 proyectos de Trabajos Fin de Máster. Cuenta también con una estancia internacional de tres meses en el Hospital Universitario de Colonia bajo la supervisión del Profesor Philipp Steven que le permite optar al grado de Doctor con Mención Internacional.

FINANCIACIÓN

El desarrollo de esta tesis doctoral ha sido posible gracias al apoyo económico recibido por parte de las siguientes instituciones:

Junta de Castilla y León cofinanciado por el Fondo Social Europeo

Contrato predoctoral: ‘Ayudas destinadas a financiar la contratación predoctoral de personal investigador, Orden EDU/556/2019’.



Universidad de Valladolid cofinanciado por el programa Erasmus+

Contrato predoctoral: ‘Convocatoria 2018 de contratos predoctorales de la Universidad de Valladolid’.

Ayuda para estancia de investigación en Alemania: ‘Ayudas para estancias breves en el desarrollo de tesis doctorales, convocatoria 2020’.

Ayuda para estancia de investigación en: ‘Ayudas financieras dirigidas a las movilidades para realizar prácticas en empresas extranjeras, en el marco del programa erasmus destinadas a estudiantes de la uva, curso académico 2019/2020’.

Ayuda para asistencia al 27 Congreso de Optometría, lentes de contacto y Óptica oftálmica, OPTOM 2022: ‘Ayudas para la asistencia a cursos, congresos y jornadas relevantes en el desarrollo de tesis doctorales convocatoria 2022’.



Universidad de Valladolid



Erasmus+

Servicio de intercambio alemán (*German Academic Exchange Service - Deutscher Akademischer Austauschdienst - DAAD*)

Ayuda para estancia de investigación en Alemania: *Research Grants - Short-Term Grants, 2022 (57588366)*.



Deutscher Akademischer Austauschdienst
German Academic Exchange Service

Financiación privada

Independent research grant, financiado por Johnson and Johnson Vision Surgical: Título del proyecto: 'Evaluation of Thermal Pulsation System (Lipiflow®) Treatment for Ocular Surface disease (OSD) due to Meibomian Gland Dysfunction (MGD)'. Código del proyecto: EMEA201805.

Johnson & Johnson VISION

ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Esta tesis doctoral opta al grado de Doctor con mención internacional. La tesis doctoral se ha llevado a cabo en el Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid, Valladolid, España, y ha sido dirigida por la Dra. María Jesús González García y la Dra. Itziar Fernández Martínez.

Además, parte de esta tesis doctoral se ha desarrollado en el Hospital Universitario de Colonia, Alemania, durante una estancia de investigación de tres meses, supervisada por el Dr. Philipp Steven.

Para cumplir con los requerimientos de la Universidad de Valladolid para optar al grado de Doctor con mención internacional, esta memoria se ha escrito en español, y se ha incluido un apartado de resumen y conclusiones escrito en inglés. La tesis doctoral contiene 7 capítulos distribuidos de la siguiente forma:

-Capítulo 1: se incluye una introducción que resume el estado del arte de las glándulas de Meibomio, los métodos de análisis descritos para evaluar su morfología, el papel de las glándulas de Meibomio en diferentes condiciones oculares, y los tratamientos para la disfunción de las mismas.

-Capítulo 2: se incluye la justificación de la tesis doctoral.

-Capítulo 3: se incluyen la hipótesis y los objetivos de la tesis doctoral.

-Capítulo 4: este capítulo se subdivide en dos partes. En la primera parte se incluye la evaluación de la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sanos, y en la segunda parte se incluye dicha evaluación en sujetos con enfermedad de ojo seco. Uno de los objetivos de este trabajo fue el desarrollo de un método objetivo de análisis de las

imágenes de meibografía, por lo que en este capítulo se incluye todo el proceso relacionado con el desarrollo y aplicación del método de análisis. Este estudio se realizó en el IOBA.

-Capítulo 5: se incluye la evaluación de la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas. Este estudio se realizó durante la estancia de tres meses en el Hospital Universitario de Colonia. En este capítulo se incluye todo el trabajo realizado durante la estancia, incluido la utilización de un software semi-automático para analizar las imágenes de meibografía, desarrollado por el Grupo de Superficie Ocular del Hospital Universitario de Colonia.

-Capítulo 6: se incluye la evaluación del tratamiento con LipiFlow® en pacientes con disfunción de GM en condiciones ambientales controladas. En este trabajo el objetivo principal fue la evaluación de los síntomas y signos clínicos antes y después del tratamiento, por lo que la evaluación de la morfología de las GM se incluyó de manera complementaria, realizando el análisis de las imágenes manualmente con el software *Image J*. Este estudio se realizó en el IOBA.

-Capítulo 7: se incluyen las conclusiones de la tesis doctoral.

ABREVIATURAS

AIC: Criterio de información de Akaike (en inglés, *Akaike's information criterion*, AIC)

ASHRAE: Sociedad Americana de Ingenieros de Calefacción, Refrigeración y Aire Acondicionado

AV: Agudeza visual (en inglés, *Visual Acuity*, VA)

CCLRU: *Cornea and Contact Lens Research Unit*

CDES-Q: *Change in dry eye symptoms questionnaire*

CELab: *Controlled Environmental Laboratory*

DEQ: *Dry Eye Questionnaire*

DEQ-5: *5-Item Dry Eye Questionnaire*

DEQS: *Dry Eye-Related Quality-of-Life Score*

DGM: Disfunción de glándulas de Meibomio (en inglés, *Meibomian gland dysfunction*, MGD)

LC: Lentes de contacto

EICH: Enfermedad de injerto contra huésped (en inglés, *Graft-versus-host disease*, GvHD)

EOS: Enfermedad de ojo seco (en inglés, *Dry eye disease*, DED)

ETDRS: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

EVA: Escala visual analógica (en inglés, *Visual analog scale*, VAS)

Fiji: *Fiji Is Just ImageJ*

GAMLSS: *Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape*

GM: Glándulas de Meibomio (en inglés, *Meibomian gland*, MG)

IC: Intervalo de confianza (en inglés, *Confidence interval*, CI)

IDEEL: Impact of Dry Eye on Everyday Life

IQR: Rango intercuartílico

IR: Intervalos de referencia (en inglés, *Reference intervals*, RI)

LASSO: *Least Absolute Shrinkage and Selection Operator*

ABREVIATURAS

LogMAR: *Logarithm of the minimum angle of resolution*

MGYLS: *Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion*

mm: Milímetros

NIBUT: Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (en inglés, *Non-invasive tear break-up time*, NIBUT)

nm: nanómetros

OSDI: *Ocular Surface Disease Index*

PI: Párpado inferior

PL: Película lagrimal (en inglés, *Tear film*, TF)

PS: Párpado se aprecia que el área que ocupan las GM

MGE: *Meibomian Gland Evaluator*

disminuye en pacientes sometidos

SANDE: *Symptom Assessment in Dry Eye Standard Patient Evaluation of Eye Dryness*

SO: Superficie ocular (en inglés, *Ocular Surface*, OS)

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

TFBUT: Tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína (en inglés *Tear fluorescein break up time*, TFBUT)

TFOS: *Tear Film & Ocular Surface Society*

RESUMEN

1. Introducción

La unidad funcional lagrimal está compuesta por las glándulas lagrimales (principales y accesorias), las glándulas de Meibomio (GM), la superficie ocular (SO), y el sistema de inervación (la rama oftálmica del nervio trigémino) que regula estas estructuras.¹ Su función es mantener el equilibrio homeostático de la SO aportando una película lagrimal (PL) de buena calidad, por lo que una alteración en cualquiera de sus componentes puede derivar en enfermedad de la SO.²

Las GM son glándulas sebáceas localizadas en los tarsos de los párpados superior e inferior,³ cuya función es secretar el meibum (compuesto principalmente por ésteres de ceras y ésteres de colesterol),⁴⁻⁷ a la PL para mejorar su estabilización y evitar su evaporación.⁸ Las GM se disponen de manera fisiológica paralelamente a lo largo del tarso palpebral, aunque su distribución puede variar en función de diferentes condiciones oculares, como por ejemplo la enfermedad de ojo seco (EOS).³ Cuando se altera la composición del meibum, se produce la disfunción de GM (DGM),⁹⁻¹² produciendo un ojo seco de subtipo evaporativo.¹³ La prevalencia de la DGM aumenta con la edad,¹⁴ y varía desde el 3,5% al 70%.¹⁵⁻²²

El diagnóstico de la DGM se basa en los síntomas referidos por el paciente, en la evaluación de la secreción de las GM y en su morfología.²³ Los síntomas están muy relacionados con la EOS, como sensación de cuerpo extraño, fotofobia, visión borrosa o dolor.²⁴⁻²⁶ Los signos principales son los cambios en la morfología del borde palpebral, la alteración de la secreción del meibum y la pérdida o disminución del número de GM.²³ La pérdida o disminución de GM se define como la

pérdida de tejido glandular que puede observarse bajo luz infrarroja mediante la técnica de meibografía.^{27,28} Esta pérdida aumenta con la edad en sujetos sanos,²⁷ pero también aumenta en pacientes con DGM.²³ Actualmente, no existe un consenso a la hora de evaluar las imágenes de meibografía. El método más utilizado es la evaluación el grado de pérdida de GM mediante escalas subjetivas,^{29,30} por parte del observador o con softwares de clasificación automática, como el sistema JENVIS incorporado en el topógrafo Keratograph 5M (OCULUS, Wetzlar, Alemania), o el software Me-check® (Hanson Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido). Otros autores han evaluado diferentes características de las GM como la longitud,³¹⁻³⁴ la anchura,³²⁻³⁵ o la tortuosidad.³⁶⁻³⁹ Se han utilizado diferentes técnicas para cuantificar estas características, desde softwares con gran intervención manual como el *Image J*,^{31,33-36,40-43} hasta otros programas automáticos o semi automáticos.^{32,44-51} Aunque estos métodos automáticos han supuesto un gran avance en el estudio de la morfología de las GM, algunos de ellos aún necesitan correcciones manuales,^{32,51} mientras que otros solo analizan el párpado superior,^{44,52} o necesitan una muestra más grande para ser validados.⁵²

La alteración de la morfología de las GM está presente en diferentes condiciones. En esta tesis doctoral se han seleccionado tres condiciones concretas para evaluar estos cambios morfológicos. En primer lugar, se seleccionó la edad. Es ampliamente conocida la relación entre la pérdida o disminución de GM y la edad,^{29,31,53,54} por lo que es necesario tener en cuenta este factor a la hora de considerar la pérdida de GM como normal o no normal. En segundo lugar, se seleccionó la EOS. La DGM es la causa más común de la EOS.⁵⁵ Algunos estudios afirman que entre un 63,6%¹⁶ y un 61,7%⁵⁶ de sujetos con EOS tienen DGM. La alteración de

la función de las GM, por un aumento de la viscosidad del meibum o por la ausencia de secreción, puede dar lugar a la atrofia de las mismas y, por tanto, a una pérdida de tejido de las GM.²³ En tercer y último lugar, se seleccionó el trasplante de células hematopoyéticas. Se ha descrito una pérdida de GM asociada a la enfermedad de injerto contra huésped con afectación ocular (EICH ocular).⁵⁷⁻⁶¹ Esta enfermedad es una de las principales complicaciones del trasplante de células hematopoyéticas,⁶² que se prescribe como tratamiento en alteraciones de la función de la médula ósea y tumores malignos.⁶³ Previo al trasplante, es necesario someter al paciente a un régimen de acondicionamiento en el que se prescriben una serie de tratamientos de quimioterapia, radioterapia y/o terapia anti supresora. Existe cierta controversia sobre si la pérdida de GM se produce incluso antes del trasplante debido a estos tratamientos,⁶⁴ por lo que es necesario evaluar la morfología de las GM en pacientes sometidos al trasplante de células hematopoyéticas antes y después del trasplante.

El tratamiento más común para la DGM es la higiene palpebral.⁶⁵ Este tratamiento consiste en la aplicación de calor en los párpados y en la realización de masajes con los dedos en el borde palpebral con el fin de mejorar la secreción de las GM.^{66,67} Aunque mejora los signos y síntomas asociados a la DGM, es un tratamiento que requiere tiempo, impactando directamente en el compromiso del paciente para realizarlo, ya que el cumplimiento suele disminuir a partir de los 2 meses⁶⁸ y, por tanto, en la efectividad del tratamiento.^{69,70} Además, la falta de consenso sobre la frecuencia con la que debe realizarse también hace que disminuya su efectividad.⁶⁵ Basándose en el mismo principio, en los últimos años se han desarrollado diferentes dispositivos que aplican calor, humedad o masaje. Un ejemplo de dispositivo que aplica calor y

realiza un masaje en los párpados es el dispositivo LipiFlow®.⁷¹ Este dispositivo consiste en un calentador de párpados que alcanza 42,5°C y una copa ocular que aplica la presión gracias a una cámara de aire hinchable, llamado 'Activador'. El tratamiento dura 12 minutos y se aplica en ambos ojos a la vez,⁷² mejorando con una sola aplicación tanto los síntomas como los signos de la DGM hasta un año después.⁷³⁻⁷⁵ Este tratamiento supone una gran ventaja para el paciente ya que no tiene que realizar higiene palpebral de manera diaria y sus efectos son duraderos. En esta tesis doctoral se ha querido comprobar el efecto sobre la superficie ocular de una exposición de los pacientes a un ambiente adverso en la eficacia del tratamiento. Ya que es ampliamente conocido que los sujetos con EOS sufren un aumento de los síntomas y los signos en condiciones ambientales adversas como es, por ejemplo, una humedad baja.⁷⁶⁻⁸⁰

2. Justificación

La DGM es la causa principal de la EOS, y su diagnóstico se basa en los síntomas referidos por el paciente y la evaluación de la función y la morfología de las GM (con imágenes de las glándulas mediante meibografía de no contacto). Existen diferentes escalas para graduar estas imágenes según el grado de pérdida de GM, como la desarrollada por Arita *et al.*²⁹ que gradúa de 0 a 3, o la desarrollada por Pult *et al.*,³⁰ de 0 a 4, ambas de menor a mayor grado de pérdida. Aunque la meibografía es el único método que permite observar la morfología de las GM, no existe un consenso a la hora de evaluar estas imágenes. Por este motivo, en esta tesis doctoral se propone el desarrollo de nuevos métodos de análisis objetivos para caracterizar la morfología de las GM

según diferentes condiciones como son la edad, la EOS, y el trasplante de células hematopoyéticas.

Además del diagnóstico, también es importante la evaluación del tratamiento para la DGM. Actualmente, las personas estamos continuamente expuestas a condiciones ambientales adversas, como baja humedad, alta temperatura, o la existencia de flujo de aire, especialmente en espacios interiores. Se conoce que una disminución de la humedad relativa aumenta los signos y síntomas de la EOS,⁷⁶ por esta razón en esta tesis doctoral se ha evaluado también el efecto de una exposición ambiental adversa en la eficacia del tratamiento de la DGM.

3. Hipótesis y objetivos

3.1. Hipótesis

La morfología de las glándulas de Meibomio cambia con la edad y en diferentes condiciones oculares, y el análisis de estos cambios puede ser útil para la evaluación del diagnóstico y tratamiento de dichas condiciones.

3.2. Objetivos

Objetivo 1: Caracterizar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sanos, definiendo intervalos de referencia para cada una de las características observables en la meibografía.

Objetivo 2: Evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco.

Objetivo 3: Evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas.

Objetivo 4: Evaluar el efecto del tratamiento para la disfunción de glándulas de Meibomio en condiciones ambientales controladas.

4. Caracterización de las glándulas de Meibomio

4.1. Intervalos de referencia para la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sanos

4.1.1. Justificación

La meibografía es la técnica más utilizada para evaluar la morfología de las GM,⁸¹ y se han desarrollado diferentes métodos para evaluar las imágenes obtenidas con esta técnica, desde escalas graduadas, a softwares automáticos o semi automáticos.^{32,44–52,82} Se ha descrito anteriormente que la morfología de las GM cambia debido a factores externos como la edad,^{29,30} y a otras condiciones oculares como la EOS o la EICH ocular.^{55,83} La caracterización de los cambios asociados a cada factor podría mejorar el diagnóstico de la DGM asociada a estas condiciones. Por este motivo, el propósito de este estudio es caracterizar de manera objetiva la morfología de las GM en sujetos sanos y definir unos intervalos de referencia (IR) para estas características morfológicas en función de la edad y el sexo que puedan servir como herramienta diagnóstica para la identificación de anomalías en dicha morfología.

4.1.2. Material y métodos

Se llevó a cabo un estudio prospectivo y observacional, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, en el que se incluyeron sujetos sanos no usuarios de lentes de contacto y sin enfermedades oculares activas o crónicas. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Área de Salud de Valladolid Este y la Comisión de Investigación del IOBA.

4.1.2.1. Evaluación clínica

Los participantes acudieron a una sola visita en la que se evaluaron sus síntomas oculares con el cuestionario *Ocular Surface Disease Index* (OSDI) y se les realizaron las siguientes pruebas clínicas: agudeza visual (AV), medida del espesor de capa lipídica de la PL, grado de hiperemia conjuntival y papilas, tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína (TFBUT), tinción corneal con fluoresceína, evaluación de la línea de Marx con fluoresceína, tinción conjuntival con verde de lisamina, signos inflamatorios del párpado, evaluación de la expresión y calidad de la secreción de las GM tras aplicar presión digital, meibografía del párpado superior y test de Schirmer sin anestesia.

4.1.2.2. Análisis objetivos de imágenes de las GM

Las imágenes de meibografía fueron analizadas utilizando un software propio implementado en el lenguaje estadístico R que consistió en cuatro etapas: selección manual de la región de interés a analizar, pre-procesado de la imagen para obtener una imagen binaria y una imagen tipo *skeleton*, modelización de cada GM, utilizando funciones lineales a trozos, y cuantificación de las siguientes características de las GM: longitud, distancia euclídea entre los extremos, anchura media, número de GM, número de segmentos por GM (cada GM se divide en segmentos en función de sus cambios de dirección), índice de tortuosidad de 0 a 1 (índice adimensional desarrollado específicamente para este trabajo donde 0 = poco tortuoso y 1 = muy tortuoso), desviación de la vertical, área global de GM de 0% a 100%, y área superior (considerando solo la mitad de la región de interés más cercana al borde libre del párpado) de 0% a 100%.

4.1.2.3. Análisis estadístico

Los valores se presentan como media e intervalo de confianza (IC) al 95%. Se calcularon los IR para cada una de las características de las GM, de forma que pudieran utilizarse como regla diagnóstica al clasificar un valor como normal o no-normal. Se utilizaron modelos GAMLSS (*Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape*) para estimar las curvas de percentiles de cada una de las variables relacionadas con la morfología de las GM, teniendo en cuenta la posible influencia de la edad y el sexo del individuo. Para llevar a cabo el ajuste del mejor modelo para cada una de las características se tomaron dos decisiones. En primer lugar, para cada una de las distribuciones de un conjunto elegido atendiendo a la naturaleza de cada variable, se decidió, utilizando un algoritmo automático, el tipo de dependencia del sexo y la edad en cada uno de los parámetros que caracterizaban a dicha distribución. En segundo lugar, se decidió cual de todas las distribuciones de la familia elegida se ajustaba mejor a los datos. La decisión se fundamentó en el criterio de información de Akaike (AIC). Todos los modelos fueron validados utilizando los residuos cuantil aleatorizados (*randomized / normalised quantile residuals*).⁸⁴

4.1.3. Resultados

Se incluyeron 156 sujetos con una media de edad de 43,88 (IC 95%: 41,38 – 46,37) años, rango 16 – 76 años. El valor medio de la longitud de las GM fue de 1,91 mm (IC 95%: 1,82 – 2,01) y su IR depende de la edad (0,87 – 2,51 mm \leq 20 años; 0,95 – 2,93 mm 21– 30 años; 1,05 – 3,14 mm 31 – 40 años; 1,11 – 3,22 mm 41 – 50 años; 1,11 – 3,13 mm 51 – 60 años; 1,03 – 2,81 mm 61 – 70 años y 0,92 – 2,57 mm 71 – 80 años). El valor medio de la distancia euclídea fue 1,8 mm (IC 95%: 1,71 – 1,89) y

su IR también depende de la edad (0,82 – 2,28 mm \leq 20 años; 0,9 – 2,73 mm 21 – 30 años; 1,02 – 2,94 mm 31 – 40 años; 1,07 – 2,98 mm 41 – 50 años; 1,07 – 2,9 mm 51 – 60 años; 0,98 – 2,57 mm 61 – 70 años y 0,87 – 2,37 mm 71 – 80 años). El valor medio de la anchura fue 0,3 mm (IC 95%: 0,29 – 0,31) y su IR depende de la edad (0,22 – 0,38 mm para 20 – 60 años; 0,23 – 0,35 mm 61 – 70 años y 0,26 – 0,33 71 – 80 años). El número de GM fue 16,05 (IC 95%: 15,28 – 16,82) (IR: 8 – 27). El número de segmentos fue 6,07 (IC 95%: 5,77 – 6,36) (IR: 3 – 9). El valor medio del índice de tortuosidad fue 0,3 (IC 95%: 0,3 – 0,31) y su IR depende de la edad (0,19 – 0,4 \leq 20 años; 0,19 – 0,41 21 – 30 años; 0,2 – 0,4 31 – 40 años; 0,22 – 0,39 41 – 50 años; 0,24 – 0,39 51 – 60 años; 0,23 – 0,41 61 – 70 años y 0,22 – 0,43 71 – 80 años). El valor medio del índice de la desviación de la vertical fue 0,37 (IC 95%: 0,36 – 0,38) (IR: 0,29 – 0,45). El valor medio del área global de GM fue 14% (IC 95%: 14 – 15) (IR: 8,17 – 19,81%). Por último, el valor medio del área superior de la región de interés del párpado fue 63% (IC 95%: 62 – 64) y su IR depende de la edad y del sexo (IR hombres: 58 – 74% \leq 20 años; 57 – 74% 21 – 30 años; 54 – 74% 31 – 40 años; 54 – 76% 41 – 50 años; 51 – 77% 51 – 60 años; 53 – 81% 61 – 70 años y 57 – 84% 71 – 80 años ; IR mujeres: 56 – 71% \leq 20 años; 55 – 71% 21 – 30 años; 52 – 81% 31 – 40 años; 52 – 73% 41 – 50 años; 50 – 74% 51 – 60 años; 51 – 77% 61 – 70 años y 55 – 82% 71 – 80 años).

4.2. Morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco

4.2.1. *Justificación*

La principal causa de la EOS es la DGM.⁸⁵ Dado que la caracterización de la morfología de las GM en sujetos sanos podría

mejorar el diagnóstico de la DGM, el objetivo de la segunda parte de este estudio es evaluar las diferencias clínicas entre sujetos sanos y sujetos con EOS y aplicar los IR para clasificar a sujetos con EOS según la morfología de sus GM.

4.2.2. *Material y métodos*

Se reclutaron sujetos con EOS definido como OSDI ≥ 13 y al menos dos de los siguientes test alterados en ambos ojos: TFBUT ≤ 7 segundos, tinción corneal con fluoresceína ≥ 1 en escala Oxford, tinción conjuntival con verde de lisamina ≥ 1 en escala Oxford, y test de Schirmer ≤ 5 mm en 5 minutos.

4.2.2.1. Evaluación clínica

Se llevaron a cabo las siguientes pruebas en una sola visita: OSDI, AV, hiperemias conjuntivales bulbar y tarsal, grado de papilas, TFBUT, tinción corneal con fluoresceína, línea de Marx, tinción conjuntival con verde de lisamina, signos de inflamación del párpado (irregularidad del borde palpebral, vascularización, obstrucción de los orificios de las GM y desplazamiento de la línea de Marx), evaluación de la expresión y calidad de la secreción de las GM (de 0 a 3 siendo 0 una expresión clara y transparente, y 3 opaca y espesa),⁸⁶ meibografía del párpado superior y test de Schirmer sin anestesia. La morfología de las GM se evaluó también con el software desarrollado en R descrito anteriormente.

4.2.2.2. Análisis estadístico

Por un lado, se comparó la muestra de sujetos con EOS con un subgrupo de sujetos sanos mayores de 45 años. Se evaluó la diferencia en el sexo con el test Chi cuadrado. Para las variables en las que pudo asumirse distribución normal se utilizó el test T de Student para muestras

independientes, mientras que para el resto de las variables se utilizó el test no paramétrico U de Man Whitney. Por otro lado, un sujeto con EOS fue clasificado como no-normal cuando el valor observado en al menos una de las características relacionadas con la morfología de sus GM estaba fuera del IR correspondiente. Se compararon las características clínicas entre el grupo de clasificados como normales y no-normales. Para comparar los dos grupos, se utilizó el contraste T de Student para dos muestras independientes cuando se cumplieron la hipótesis de normalidad, y el contraste U de Mann-Whitney para el resto.

4.2.3. Resultados

Se incluyeron 76 sujetos sanos, con una media de edad de 57,63 (IC 95%: 56 – 59,26) años, y 39 sujetos en el grupo de EOS, con una media de edad 61,56 años (IC 95%: 58,2 – 64,92). El grupo de EOS tuvo un porcentaje significativamente mayor de mujeres (74,36% frente a 50%, $p = 0,012$). También tuvo un mayor valor de OSDI: 32,75 (IC 95%: 26,36 – 39,13) frente a 3,24 (IC 95%: 2,44 – 4,03); $p < 0,001$. La hiperemia conjuntival bulbar y tarsal fue mayor en los sujetos con EOS (bulbar: valor mediano 2 [Rango intercuartílico (IQR): 1] frente a 1 [IQR: 0], $p = 0,003$; tarsal: 2 [IQR: 2] frente a 1 [IQR: 1], $p = 0,004$). El TFBUT fue menor en los sujetos con EOS: 3,3 segundos (IC 95%: 2,87 – 3,73) frente a 9,29 segundos (IC 95%: 7,84 – 10,74); $p < 0,001$. Los valores de tinción corneal: 3,38 (IC 95%: 2,5 – 4,27) frente a 0,45 (IC 95%: 0,27 – 0,65); línea de Marx: 9,26 (IC 95%: 8,13 – 10,38) frente a 6,24 (IC 95%: 5,4 – 7,08); y tinción conjuntival: 2,33 (IC 95%: 1,92 – 2,75) frente a 0,68 (IC 95%: 0,4 – 0,96), también fueron mayores en el grupo con EOS (todos $p < 0,001$). Los signos de inflamación (2 [IQR: 0] frente a 1 [IQR: 1]), la función (2 [IQR: 1] frente a 1 [IQR: 1]), y la calidad de la secreción (2 [IQR:

1] frente a 1 [IQR: 1]) de las GM fueron significativamente mayores en el grupo con EOS ($p < 0,001$). La longitud de las GM: 1,72 mm (IC 95%: 1,49 – 1,94) frente a 1,95 mm (IC 95%: 1,81 – 2,09); $p = 0,023$; y la distancia euclídea: 1,66 mm (IC 95%: 1,43 – 1,89) frente a 1,83 mm (IC 95%: 1,7 – 1,96); $p = 0,041$, fueron menores en los sujetos con EOS. También fue menor el número de segmentos: 5,35 (IC 95%: 4,76 – 5,94) frente a 6,28 (IC 95%: 5,85 – 6,71); $p = 0,011$. No hubo diferencias significativas en el resto de las variables.

Según los IR, el 66,7% de los sujetos con EOS se clasificaron como 'normales' (IR-normal) y el 33,3% como 'no-normales' (IR-no normal). El grupo IR-no normal frente al grupo IR-normal tuvo un valor mayor del OSDI: 40,14 (IC 95%: 28,87 – 51,4) frente a 29,06 (IC 95%: 21,18 – 36,93); $p = 0,0342$, y una peor expresión (2 [IQR: 0] frente a 2 [IQR: 1], $p = 0,041$) y calidad (2 [IQR: 0] frente a 2 [IQR: 1], $p = 0,0522$) de la secreción de las GM. No se encontraron diferencias significativas en el resto de las variables.

5. Efecto del trasplante de células hematopoyéticas en las glándulas de Meibomio

5.1. Justificación

La EICH es una de las principales complicaciones del trasplante de células hematopoyéticas, y entre 60% y un 90%^{87,88} de los pacientes con EICH crónico desarrolla afectación de la SO, causando lo que se denomina EICH ocular.⁶² Previo al trasplante, se prescriben una serie de tratamientos de quimioterapia, radioterapia y/o terapia anti supresora que afectan a diferentes estructuras de la SO, entre ellas las GM.⁸⁹⁻⁹¹ Por este motivo, el objetivo de este estudio es evaluar el estado de las GM

en sujetos sometidos al tratamiento previo al trasplante alogénico de células hematopoyéticas y su evolución tras el trasplante.

5.2. Material y métodos

Este estudio retrospectivo se realizó en el Grupo de Superficie Ocular del Hospital Universitario de Colonia, Alemania, a cargo del Dr. Philipp Steven. Se recogieron imágenes de meibografía de ambos párpados de un ojo de sujetos sometidos a trasplante de células hematopoyéticas entre 2014 y 2020, y de sujetos control sanos. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario de Colonia, bajo el código EPISODE: #16-405.

5.2.1. *Análisis de las imágenes*

Se graduó el área de pérdida de las GM con la escala *meiboscale* de Pult *et al.*,³⁰ y además se analizaron las imágenes con el software MeVisLab (www-mevislab.de, *MeVis Medical Solutions AG*, Bremen, Alemania), personalizado para la detección y análisis de las GM. El análisis consiste en cuatro etapas: selección manual del área total del párpado, selección de las GM dentro de esa área, obtención de la imagen segmentada, y obtención de la imagen tipo *skeleton*. Se cuantificaron las siguientes medidas con el software Fiji (*Fiji Is Just Image J*, *National Institutes of Health*, Bethesda, Maryland, Estados Unidos): área de GM, número de GM, longitud y tortuosidad.

5.2.2. *Análisis estadístico*

Para evaluar el estado de las GM de los sujetos sometidos al tratamiento previo al trasplante, se compararon las imágenes de meibografía de los sujetos justo antes del trasplante (tras tratamiento con quimioterapia y/o radioterapia) con imágenes de sujetos control. Los

grupos fueron estadísticamente diferentes en cuanto a la edad, por lo que se utilizó el método del índice de propensión⁹² para balancear las muestras tanto en edad como en sexo. Se asignó un peso a cada observación, se ajustaron modelos lineales con dichos pesos y se evaluó la influencia del grupo en cada una de las características relacionadas con la morfología de las GM.

Para comprobar la evolución del estado de las GM tras el trasplante, se compararon las imágenes pre-trasplante con al menos un mes de seguimiento tras el trasplante. Se utilizó el test T de Student para muestras relacionadas para las variables que cumplieron la hipótesis de normalidad y el contraste de Wilcoxon para muestras relacionadas para el resto de las variables.

5.3. Resultados

Se incluyeron 181 sujetos sometidos al tratamiento pre-trasplante y 24 sujetos control. La edad media estimada en cada grupo fue de 51,27 años (IC 95%: 49,04 – 53,5) y 48,83 años (IC 95%: 43,98 – 53,68), para los grupos trasplante y control, respectivamente. El grupo de sujetos trasplantados tuvo un mayor grado de pérdida de GM en el párpado inferior: 2 (IC 95%: 2 – 3) frente a 0 (IC 95%: 0 – 2); $p = 0,001$. La longitud de las GM fue menor en los sujetos trasplantados en ambos párpados: superior = 1,31 mm (IC 95%: 1,23 – 1,40) frente a 2,79 mm (IC 95%: 2,50 – 3,08), $p < 0,001$; inferior = 0,75 mm (IC 95%: 0,70 – 0,80) frente a 1,12 mm (IC 95%: 1,00 – 1,25); $p < 0,001$. No se encontraron diferencias significativas en el área de GM, el número de GM, ni en la tortuosidad.

Se seleccionó un subgrupo de 31 sujetos con una media de edad de 50,01 años (IC 95%: 45,47 – 54,56) y con una media de 10,16 meses (IC 95%: 7,65 – 12,57) de seguimiento después del trasplante (rango 1 – 38

meses). El grado de pérdida de GM fue mayor después del trasplante en el párpado superior: 2 (IC 95%: 1,57 – 2,3); 2, (IC 95%: 1,16 – 1,68); $p = 0,005$. El área de GM fue menor después del trasplante en ambos párpados: superior = 16,33% (IC 95%: 14,06 – 18,6) frente a 21,04% (IC 95%: 18,76 – 23,32); $p < 0,001$; inferior = 11,74% (IC 95%: 9,27 – 14,31) frente a 16,41% (IC 95%: 14,04 – 18,79); $p = 0,002$).

La longitud de las GM fue mayor después del trasplante en ambos párpados: superior = 2,26 mm (IC 95%: 2,04 – 2,47) frente a 1,58 mm (IC 95%: 1,36 – 1,8); $p < 0,001$; inferior = 1,2 mm (IC 95%: 1,06 – 1,35) frente a 0,88 mm (IC 95%: 0,78 – 0,98); $p = 0,034$. La tortuosidad en el párpado inferior también fue mayor después del trasplante, 1,23 (IC 95%: 1,14 – 1,33) frente a 1,17 (IC 95%: 1,1 – 1,23), $p = 0,048$. No se encontraron diferencias significativas en el resto de las variables.

6. Efecto del tratamiento con pulsación térmica en pacientes con disfunción de glándulas de Meibomio bajo condiciones ambientales controladas

6.1. Justificación

La eficacia del dispositivo LipiFlow® para el tratamiento de la DGM ha sido ampliamente probada y sus efectos perduran hasta un año después del tratamiento.⁷³⁻⁷⁵ Sin embargo, el estilo de vida actual hace que las personas estemos expuestas a ambientes adversos como puede ser una humedad relativa reducida. Estos ambientes adversos provocan un aumento de los signos y síntomas asociados a la EOS.⁸⁰ Por esta razón, el objetivo de este estudio es evaluar la eficacia del dispositivo LipiFlow® en sujetos con DGM durante un año de seguimiento y bajo condiciones ambientales normales y adversas.

6.2. Material y métodos

6.2.1. *Sujetos de estudio*

Se reclutaron sujetos con EOS debido a DGM con una puntuación ≥ 13 en el cuestionario OSDI, una puntuación de la secreción de las GM en el párpado inferior en ambos ojos ≤ 12 según *Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion (MGYLS) score* (evaluada con el *Meibomian Gland Evaluator, MGE*),⁷⁴ y al menos 10 de 15 glándulas funcionales en el párpado inferior. El estudio se realizó de acuerdo con los principios de la declaración de Helsinki y con la aprobación del Comité Ético del Área de Salud de Valladolid Este y la Comisión de Investigación del IOBA.

6.2.2. *Diseño del estudio y evaluación clínica*

Los participantes acudieron a una visita inicial para evaluar su inclusión en el estudio, una visita basal para la toma de datos, una visita de aplicación de LipiFlow® y 3 visitas de seguimiento a los 3, 6 y 12 meses. En la visita basal y en las visitas de seguimiento, los participantes permanecieron durante 30 minutos en la cámara de ambiente controlado (*Controlled Environmental Laboratory, CELab, Vision R&D*)⁷⁸ expuestos a una condición ambiental controlada normal: 23°C y 50% de humedad relativa.⁷⁸ A continuación, se les realizó la exploración clínica incluyendo las siguientes pruebas: evaluación de los síntomas con el cuestionario OSDI, AV, medida del espesor de la capa lipídica de la PL con el interferómetro Lipiview II, grado de hiperemia conjuntival, grado de blefaritis anterior, tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (NIBUT) y con fluoresceína (TFBUT), tinción corneal con fluoresceína, tinción conjuntival con verde de lisamina y meibografía. Posteriormente, los participantes estuvieron expuestos durante 2 horas a una condición ambiental controlada adversa: 23°C y 10% de humedad relativa. Tras

estas 2 horas, se realizaron las siguientes pruebas clínicas: evaluación de los síntomas tras la exposición con el cuestionario *Change in dry eye symptoms questionnaire* (CDES-Q)⁹³ y la escala visual analógica 0 – 10 (EVA), medida del espesor de capa lipídica de la PL, NIBUT y TFBUT, tinción corneal y conjuntival y evaluación de la función de las GM con la escala MGYLS. Además, se les recogió una muestra de meibum del borde palpebral con un capilar para ser analizado posteriormente con resonancia magnética nuclear de ¹H.⁹⁴

6.2.3. Análisis estadístico

Como análisis primario de eficacia, se comparó el TFBUT de la visita basal con la visita a los 3 meses de seguimiento en la condición ambiental normal mediante el contraste de Wilcoxon. Como análisis secundario, se evaluó el MGYLS en todas las visitas utilizando modelos lineales mixtos. Para analizar los valores del CDES-Q, se comparó el porcentaje de sujetos que se sintieron mejor, peor o igual tras la exposición de 2 horas a la condición ambiental adversa, a los 3, 6 y 12 meses, con el resultado de la visita basal, utilizando el test de McNemar. Para las variables cuantitativas se ajustaron modelos lineales mixtos. En aquellas variables medidas en ambas condiciones ambientales, se añadió al modelo el efecto de la exposición ambiental. Para cuantificar y describir cada efecto incluido en el modelo, se estimaron las medias marginales y sus diferencias. Se compararon los niveles 2 a 2 utilizando el método de Tukey para el ajuste de comparaciones múltiples. En el caso del modelo con interacción, se interpretó el efecto de dicha interacción. Para las variables ordinales se utilizaron modelos mixtos *logit* acumulados. Se utilizó la aproximación de Laplace para obtener la máxima probabilidad estimada, calculada como *odds-ratio*.

El análisis de la composición del meibum se realizó de forma separada para los dos compuestos mayoritariamente detectados: el colesterol y la cera éster insaturada, dividiendo a los sujetos en dos grupos para cada componente. Cuando el componente se detectó en la visita basal y no se detectó en las visitas de seguimiento; y cuando el componente no se detectó en ninguna visita. Se analizaron las diferencias entre grupos para las variables OSDI, grado de blefaritis anterior, tinción corneal y conjuntival, y MGYLS, utilizando el estadístico T-Student para las variables cuantitativas, y U de Man-Whitney para las ordinales.

6.3. Resultados

Se incluyeron 17 mujeres y 4 hombres, con una edad media de 59,62 (IC 95%: 55,34 – 63,9) años. Ni el tiempo ni las condiciones ambientales tuvieron un efecto significativo en la variable primaria TFBUT entre la visita basal y las visitas de seguimiento. Sin embargo, hubo un aumento significativo en la variable secundaria MGYLS a los 12 meses de seguimiento (basal = 10,3 (IC 95%: 9,6 – 11); 12 meses = 12,2 (IC 95%: 11,2 – 13,2); $p = 0,001$).

6.3.1. *Síntomas*

Se observó un descenso significativo en la sintomatología entre la visita basal y la visita de seguimiento a los 12 meses, OSDI basal = 43,02 (IC 95%: 32,13 – 53,91); OSDI 12 meses = 28,98 (IC 95%: 18,86 – 39,1); $p = 0,003$. Ni el tiempo ni las condiciones ambientales tuvieron un efecto significativo en el CDES-Q ni en la EVA.

6.3.2. Signos

No se encontraron diferencias significativas en la AV entre las visitas. En el espesor de capa lipídica no hubo diferencias significativas entre visitas bajo la condición ambiental normal, aunque el modelo estimó una disminución de 6,5 nm tras la exposición a la condición ambiental adversa ($p < 0,001$). Ni el tiempo ni las condiciones ambientales tuvieron un efecto significativo en la hiperemia conjuntival. El tiempo tuvo un efecto significativo en el grado de blefaritis anterior a los 6 ($p = 0,01$) y a los 12 meses ($p = 0,001$). El riesgo de tener una blefaritis anterior un punto más severa en la visita inicial fue 12,5 y 125 veces mayor que en las visitas de los 6 y 12 meses, respectivamente. El NIBUT en la visita de seguimiento a los 3 meses fue mayor en la condición ambiental normal que en la condición adversa: normal = 12,2 segundos (IC 95%: 7,8 – 16,6); adversa = 6,8 segundos (IC 95%: 5,6 – 7,9); $p < 0,001$. No encontrando diferencias en el resto de las visitas. La tinción corneal disminuyó significativamente en cada visita: basal = 3,14 (IC 95%: 1,88 – 4,41); 3 meses = 2,38 (IC 95%: 1,52 – 3,24), $p < 0,001$; 6 meses = 2 (IC 95%: 0,85 – 3,15), $p < 0,001$; 12 meses = 1,67 (IC 95%: 0,87 – 2,46), $p < 0,0001$. Además, el descenso de la tinción corneal entre la visita de los 3 y los 12 meses también fue significativo ($p = 0,031$).

En relación con la condición ambiental adversa, el modelo mostró un descenso de la tinción corneal en todas las visitas tras 2 horas de exposición: basal = 3,98 (IC 95%: 2,96 – 5); 3 meses = 2,62 (IC 95%: 1,83 – 3,42); 6 meses = 2,19 (IC 95%: 1,3 – 3,09); 12 meses = 2,02 (IC 95%: 1,2 – 2,84); $p = 0,017$. La tinción conjuntival disminuyó a los 6 ($p < 0,001$) y 12 meses ($p < 0,001$). La probabilidad de disminuir una unidad en la tinción conjuntival a los 6 y 12 meses fue 4,54 y 16,66 veces,

respectivamente; mientras que la condición ambiental no tuvo un efecto significativo. No se encontraron diferencias significativas en el grado de pérdida de GM entre visitas, ni en el párpado superior ni en el inferior. Se observó una mejora de la función de las GM evaluadas con el MGYLS score en todas las visitas: basal = 10,26 (IC 95%: 9,57 – 10,96); 3 meses = 11,59 (IC 95%: 11,09 – 12,29); 6 meses = 12,45 (IC 95%: 11,36 – 13,55); 12 meses = 12,21 (IC 95%: 11,22 – 13,21); $p < 0,001$.

6.3.3. *Composición del meibum*

En la composición del meibum, se detectó colesterol y cera éster insaturada, pero se observaron dos comportamientos diferentes, dividiendo a los sujetos en 2 grupos en base a la detección de cada compuesto; colesterol y cera éster insaturada – en las visitas basal y el resto de las visitas – resultando un total de 4 grupos: A) colesterol detectado (12 sujetos, media de edad = 60,23 (IC 95%: 56,53 – 63,93) años), B) colesterol no detectado (9 sujetos, media de edad = 58,63 (IC 95%: 47,2 – 70,05) años), C) cera éster insaturada detectada (8 sujetos, media de edad = 60,88 (IC 95%: 54,45 – 67,3) años) y D) cera éster insaturada no detectada (13 sujetos, media de edad = 58,85 (IC 95%: 52,47 – 65,23) años).

En el caso del colesterol, la tinción corneal fue mayor en el grupo A (colesterol detectado) respecto al grupo B (colesterol no detectado) en la visita basal: A = 4,15 (IC 95%: 2,3 – 6,01); B = 1,5 (IC 95%: 0,69 – 2,31), $p = 0,011$; y a los 3 meses de seguimiento: A = 3,12 (IC 95%: 1,94 – 4,29); B = 1,19 (IC 95%: 0,3 – 2,08), $p = 0,009$. En el caso de la cera éster insaturada, la tinción corneal también fue mayor en la visita basal en el grupo C (cera éster insaturada detectada) respecto al grupo D (cera éster insaturada no detectada): C = 4,5 (IC 95%: 1,94 – 7,06); D = 2,13 (IC

95%: 0,97 – 3,28), $p = 0,041$. En el resto de las visitas no hubo diferencias significativas.

La tinción conjuntival, en el caso del colesterol, fue mayor en el grupo A respecto al grupo B, a los 3 meses de seguimiento (A: 3 [IQR: 4]; B: 0,75 [IQR: 1]; $p = 0,015$). En el caso de la cera éster insaturada, no hubo diferencias significativas. No hubo diferencias entre grupos en la sintomatología ni en el grado de blefaritis anterior, ni en el MGYLS.

7. Conclusiones

Conclusión 1: Es posible caracterizar la morfología de las glándulas de Meibomio del párpado superior de manera objetiva, definiendo nuevos índices que permiten cuantificar diferentes propiedades de dichas glándulas, y determinando los intervalos de referencia para cada una de las características morfológicas teniendo en cuenta la influencia de la edad y el sexo. Estos valores pueden ser utilizados a la hora de describir los cambios asociados a alteraciones de la superficie ocular en función de la edad y el sexo.

Conclusión 2: Es posible evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco aplicando los índices definidos en esta tesis doctoral y clasificar dicha morfología en estos sujetos aplicando los intervalos de referencia calculados en esta tesis doctoral. De acuerdo con esta clasificación, la alteración de la morfología de las glándulas de Meibomio puede contribuir a detectar casos con una peor función de las glándulas de Meibomio y un mayor grado de síntomas cuando los signos oculares son iguales.

Conclusión 3: Los sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas sufren un aumento del grado de pérdida de glándulas

de Meibomio tras el trasplante, aunque los tratamientos previos al trasplante como la radioterapia o la quimioterapia contribuyen también a una alteración de la morfología de las glándulas de Meibomio.

Conclusión 4: Una sola sesión de tratamiento con LipiFlow® supone una mejora objetiva y subjetiva de la unidad funcional lagrimal en pacientes con disfunción de glándulas de Meibomio en condiciones ambientales controladas y sus efectos duran hasta un año después del tratamiento.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Representación de la unidad funcional lagrimal.....	45
Figura 1.2. Distribución de las glándulas de Meibomio en los tarsos palpebrales.....	46
Figura 1.3. Morfología de una glándula de Meibomio y su mecanismo de secreción.....	47
Figura 1.4. Clasificación de la disfunción de glándulas de Meibomio.....	51
Figura 1.5. Ejemplo de alteración leve en la secreción del meibum.....	58
Figura 1.6. Ejemplo de obstrucción de los orificios del borde palpebral del párpado superior.....	58
Figura 1.7. Ejemplo de queratitis punteada superficial.....	58
Figura 1.8. Ejemplo de cambios morfológicos en el borde palpebral.....	58
Figura 1.9. Ejemplo de pérdida de glándulas de Meibomio.....	59
Figura 1.10. Comparación entre la técnica de transiluminación y la iluminación con luz infrarroja.....	61
Figura 1.11. Meibografía de no contacto.....	61
Figura 1.12. <i>Meiboscale</i> para graduar la pérdida de glándulas de Meibomio.....	63
Figura 1.13. Cálculo del área de pérdida de glándulas de Meibomio con <i>Image J</i>	65
Figura 1.14. Análisis de meibografía.....	68
Figura 1.15. Blepha Eyebag®.....	77
Figura 1.16. EyeBag® Instant.....	78
Figura 1.17. TearCare® System.....	78
Figura 1.18. MiBo Thermoflo®.....	79
Figura 1.19. Bruder Mask.....	80
Figura 1.20. Eye-ssential® Mask.....	80
Figura 1.21. Blephasteam®.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.22. Eyepeace.....	81
Figura 1.23. Activador del LipiFlow®.....	82
Figura 1.24. Posición del activador del LipiFlow® dentro del párpado.....	82
Figura 1.25. Aplicación del tratamiento LipiFlow® a una paciente..	83
Figura 1.26. Ilux.....	85
Figura 1.27. Sondaje intraductal de las glándulas de Meibomio.....	86
Figura 1.28. Laboratorio de ambiente controlado CELab.....	90
Figura 4.1. Medida del espesor de capa lipídica.....	98
Figura 4.2. Escala Efron.....	98
Figura 4.3. Medida del tiempo de ruptura lagrimal.....	100
Figura 4.4. Medida de la tinción corneal con fluoresceína.....	100
Figura 4.5. Escala <i>Cornea and Contact Lens Research Unit</i>	100
Figura 4.6. Escala Oxford.....	101
Figura 4.7. Escala Yamaguchi para la línea de Marx.....	102
Figura 4.8. Tinción conjuntival con verde de lisamina.....	103
Figura 4.9. Meibografía de no contacto.....	104
Figura 4.10. Test de Schirmer.....	105
Figura 4.11. Esquema del análisis de meibografía con R.....	109
Figura 4.12. Distancia euclídea entre los extremos de una glándula de Meibomio.....	110
Figura 4.13. Anchura de una glándula de Meibomio.....	110
Figura 4.14. Número de glándulas de Meibomio.....	110
Figura 4.15. Ejemplo de una glándula de Meibomio ajustada utilizando un modelo de regresión lineal a trozos.....	111
Figura 4.16. Ejemplo de medida de desviación de la vertical.....	111
Figura 4.17. Medida del área de glándulas de Meibomio.....	112
Figura 4.18. Pasos del algoritmo para seleccionar las variables explicativas relevantes dada una familia de distribuciones.....	119
Figura 4.19. Intervalos de referencia al 90% para la longitud.....	127

Figura 4.20. Intervalos de referencia al 90% para la distancia euclídea entre los extremos.....	129
Figura 4.21. Intervalos de referencia al 90% para la anchura.....	130
Figura 4.22. Intervalos de referencia al 90% para el número de glándulas de Meibomio.....	133
Figura 4.23. Intervalos de referencia al 90% para el número de segmentos.....	134
Figura 4.24. Intervalos de referencia al 90% para la tortuosidad....	136
Figura 4.25. Intervalos de referencia al 90% para la desviación de la vertical.....	137
Figura 4.26. Intervalos de referencia al 90% para el área global....	138
Figura 4.27. Intervalos de referencia al 90% para el área superior.....	139
Figura 4.28. Cálculo del área de pérdida de glándulas de Meibomio con <i>Image J</i>	149
Figura 4.29. Cálculo del área de glándulas de Meibomio con <i>Image J</i>	150
Figura 4.30. Valores de OSDI.....	166
Figura 4.31. Expresión de la secreción de las glándulas de Meibomio.....	166
Figura 4.32. Calidad de la secreción de las glándulas de Meibomio.....	167
Figura 5.1. Oculus Keratograph 5M.....	186
Figura 5.2. <i>Meiboscale</i> para graduar la pérdida de glándulas de Meibomio.....	186
Figura 5.3. Pasos para el procesamiento de las imágenes utilizando el software MeVisLab.....	188
Figura 5.4. Análisis de meibografía.....	189
Figura 5.5. Valores de <i>meiboscale</i> en sujetos antes del trasplante y sujetos control para ambos párpados.....	194
Figura 5.6. Valores de la longitud de GM en sujetos antes del trasplante y sujetos control para ambos párpados.....	194

Figura 5.7. Diagnóstico anterior al trasplante en el grupo de sujetos con seguimiento posterior al trasplante.....	195
Figura 5.8. Diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped (EICH) después del trasplante en el grupo de sujetos con seguimiento posterior al trasplante.....	196
Figura 5.9. Valores de <i>meiboscale</i> antes y después del trasplante para ambos párpados.....	199
Figura 5.10. Valores del área de GM antes y después del trasplante para ambos párpados.....	199
Figura 5.11. Valores del área de GM antes y después del trasplante para ambos párpados.....	200
Figura 5.12. Valores de la longitud de las GM antes y después del trasplante para ambos párpados.....	200
Figura 5.13. Valores medios de la tortuosidad de las GM antes y después del trasplante para ambos párpados.....	201
Figura 6.1. Esquema del diseño del estudio.....	218
Figura 6.2. Análisis de la pérdida de glándulas de Meibomio con <i>Image J</i>	223
Figura 6.3. Evaluación de la expresión de las glándulas de Meibomio con el <i>Meibomian gland evaluator</i>	224
Figura 6.4. Graduación de la secreción de las glándulas de Meibomio con el <i>Meibomian Gland Evaluator</i> y de acuerdo con la escala <i>Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion score</i>	224
Figura 6.5. Recogida de meibum con un microcapilar.....	225
Figura 6.6. Número de pacientes reclutados y número final de sujetos que finalizaron el estudio.....	230
Figura 6.7. Tinción corneal con fluoresceína.....	237
Figura 6.8. Distribución de los sujetos en grupos.....	238
Figura 6.9. Valores de tinción corneal con fluoresceína.....	240
Figura 6.10. Valores de tinción conjuntival con verde de lisamina..	241

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Factores de riesgo oftalmológicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.....	52
Tabla 1.2. Factores de riesgo sistémicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.....	53
Tabla 1.3. Factores de riesgo farmacológicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.....	54
Tabla 1.4. Fases de la disfunción de glándulas de Meibomio.....	55
Tabla 1.5. Ejemplos de las formas que pueden adoptar las glándulas de Meibomio.....	64
Tabla 4.1. Tipos de variables incluidas en el análisis descriptivo...	114
Tabla 4.2. Distribuciones y parámetros para variables continuas con soporte $(0, \infty)$	116
Tabla 4.3. Distribuciones y parámetros para variables de tipo conteo.....	117
Tabla 4.4. Distribuciones y parámetros para variables continuas con soporte $(0, 1)$	117
Tabla 4.5. Número de sujetos en cada rango de edad separados por sexo.....	121
Tabla 4.6. Valores descriptivos de las variables evaluadas de la superficie ocular para sujetos sanos.....	122
Tabla 4.7. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuo con soporte $(0, \infty)$	123
Tabla 4.8. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo conteo.....	123
Tabla 4.9. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuo con soporte $(0 - 1)$	124
Tabla 4.10. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuo con soporte $(0, \infty)$	124
Tabla 4.11. Percentiles estimados por el modelo para la longitud...	128
Tabla 4.12. Percentiles estimados por el modelo para la distancia euclídea entre los extremos.....	129
Tabla 4.13. Percentiles estimados por el modelo para la anchura..	131

Tabla 4.14. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo conteo.....	132
Tabla 4.15. Percentiles estimados por el modelo para el número de glándulas de Meibomio.....	133
Tabla 4.16. Percentiles estimados por el modelo para el número de segmentos.....	134
Tabla 4.17. Distribuciones para las variables continuas relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuo con soporte (0 – 1).....	135
Tabla 4.18. Percentiles estimados por el modelo para la tortuosidad.....	136
Tabla 4.19. Percentiles estimados por el modelo para la desviación de la vertical.....	137
Tabla 4.20. Percentiles estimados por el modelo para el área global.....	138
Tabla 4.21. Percentiles estimados por el modelo para el área superior.....	140
Tabla 4.22. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para sujetos sanos y con enfermedad de ojo seco.....	159
Tabla 4.23. Valores de las variables relacionadas con la morfología de las GM para los sujetos sanos y los sujetos con enfermedad de ojo seco.....	162
Tabla 4.24. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para los grupos con enfermedad de ojo seco IR-normal, IR-no normal.....	164
Tabla 5.1. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de los pacientes antes del trasplante y de los sujetos control	192
Tabla 5.2. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado inferior de los pacientes antes del trasplante y de los sujetos control	193
Tabla 5.3. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de los pacientes antes y después del trasplante.....	197

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 5.4. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado inferior de los pacientes antes y después del trasplante.....	198
Tabla 5.5. Valores de grado de pérdida (escala Arita) de GM antes y después del trasplante en el estudio realizado por Hwang <i>et al.</i> ⁶⁰	209
Tabla 6.1. Valores medios de las variables primaria, secundaria y de seguridad.....	232
Tabla 6.2. Resultados de los síntomas.....	233
Tabla 6.3. Resultados de los signos.....	236
Tabla 6.4. Valores por grupos de la visita de inclusión.....	239
Tabla 6.5. Valores por grupos de OSDI, MGYLS y grado de blefaritis anterior en todas las visitas.....	242

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Superficie ocular y unidad funcional lagrimal

El concepto de superficie ocular (SO) se define por primera vez en 1978 como una unidad compuesta por la córnea, la conjuntiva, el limbo esclero-corneal y la película lagrimal (PL).⁹⁵ Posteriormente, se han añadido otras estructuras oculares al concepto de SO, como son: la conjuntiva, los párpados, las pestañas, las glándulas lagrimales principales y accesorias (Zeiss, Moll, Krause y Wolfring), y las glándulas de Meibomio (GM).⁹⁶

Las glándulas lagrimales y la SO no funcionan de manera independiente si no que lo hacen como un conjunto. Para describir esa relación surgió el concepto de unidad lagrimal funcional en 1998.¹ Es decir, la unidad lagrimal funcional se compone de las glándulas lagrimales principales y accesorias, la SO, y el sistema de inervación que las conecta y regula su acción (Figura 1.1). Los estímulos recibidos por las terminaciones nerviosas libres de la córnea viajan a la corteza cerebral a través de la rama oftálmica del nervio trigémino, y la respuesta eferente a esos estímulos se envía a las glándulas lagrimales.¹ La función de la unidad lagrimal principal es mantener el equilibrio homeostático de la SO, aportando una PL de buena calidad. Por esta razón, cualquier alteración en uno o varios componentes de la unidad lagrimal funcional puede desestabilizar la PL y derivar en enfermedad de la SO.²

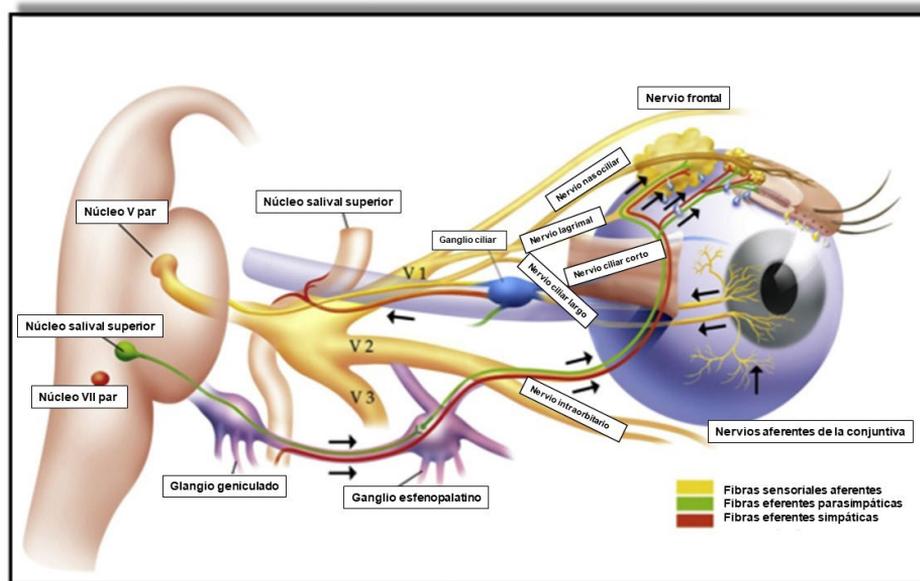


Figura 1.1. Representación de la unidad funcional lagrimal. Los impulsos de la superficie ocular se transmiten por la vía oftálmica del nervio trigémino (V1), hacen sinapsis en el núcleo salival superior y modulan la producción lagrimal. Imagen adaptada de Pflugfelder, SC; Beuerman RW; Stern, ME, eds. *Dry Eye and Ocular Surface Disorders*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.; 2004.

1.2. Glándulas de Meibomio

Las GM son glándulas sebáceas localizadas en la zona tarsal de los párpados. Su nombre se debe al médico anatomista alemán Heinrich Meibom, quien las describió en 1666.³ Su función es secretar el meibum a la PL para mejorar su estabilización y evitar su evaporación.⁸ El meibum está compuesto principalmente por ésteres de ceras y ésteres de colesterol y, en menor proporción, de triglicéridos, además de colesterol libre, ácidos grasos de cadena corta, fosfolípidos y diésteres.⁴⁻⁷ La secreción normal del meibum es clara y untuosa, similar al aceite de oliva, y se vuelve opaca y más viscosa cuando la función de las GM está alterada.³

1.2.1. Estructura

Cada GM está formada por acinos dispuestos de manera circular alrededor de un gran conducto principal y comunicados entre sí por conductos más pequeños. El conducto principal termina en unos orificios en el borde palpebral, antes de la unión muco-cutánea, a través de los cuales se secreta el meibum al menisco lagrimal. Las GM se disponen de manera fisiológica paralelamente a lo largo del tarso palpebral (Figura 1.2), aunque su distribución puede variar en función de diferentes condiciones oculares, como se mencionará más adelante. Dado que el párpado superior tiene más superficie que el inferior, el número de GM y su distribución es diferente en cada párpado. De esta manera, en estudios histológicos se ha visto que en el párpado superior hay una media de 31 GM, con una longitud media de 5,5 mm; mientras que en el inferior hay una media de 26 GM con una longitud media de 2 mm y una anchura mayor que en el superior.³

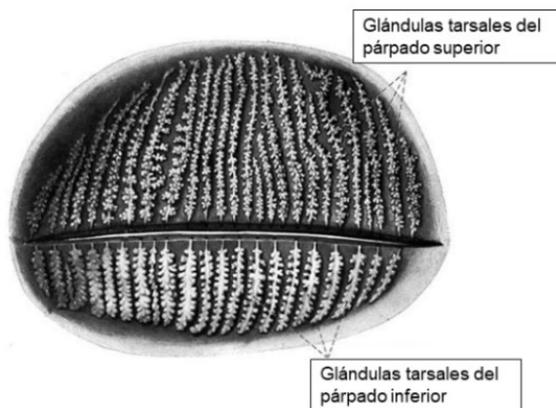


Figura 1.2. Distribución de las glándulas de Meibomio en los tarsos palpebrales. Las glándulas se distribuyen verticalmente desde el inicio del tarso hasta el borde palpebral. Imagen adaptada de Knop N, Knop E. [Meibomian glands. Part I: anatomy, embryology, and histology of the Meibomian glands] Meibom-Drüsen Teil

I: Anatomie, Embryologie und Histologie der Meibom-Drüsen. *Ophthalmologie*. 2009;106:872-883. Número de licencia: 1194579-2.

1.2.2. Función

La acción de secreción está regulada por mecanismos hormonales, neurológicos y mecánicos, gracias a la contracción muscular durante el parpadeo.³ Los meibocitos son las células que producen y acumulan los lípidos, y migran desde los acinos hacia los conductos laterales y, posteriormente, al conducto central (Figura 1.3).⁹⁷ La secreción se libera de manera continua a nivel del borde palpebral a través de los orificios situados en él.^{3,98} La acción de secreción se desencadena durante el parpadeo, cuando el músculo orbicular del párpado comprime el tarso y favorece la secreción.⁹⁹ Sin embargo, no todas las GM secretan meibum a la vez, si no que aquellas situadas en la parte nasal son más activas que las de la parte central y temporal del párpado.⁷⁰

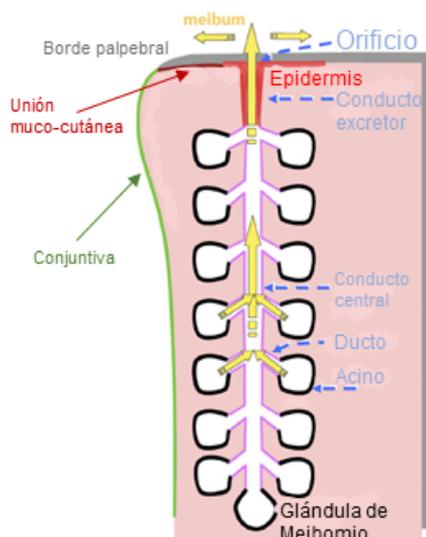


Figura 1.3. Morfología de una glándula de Meibomio y su mecanismo de secreción. Los conductos laterales se disponen circularmente alrededor del conducto central, que termina en el orificio del borde palpebral, donde secreta el meibum. El meibum se sintetiza en los acinos secretores y se desplaza por el conducto central hasta el borde palpebral (flechas amarillas). Imagen obtenida y adaptada de Knop N, Knop E. [Meibomian glands. Part I: anatomy,

embryology, and histology of the Meibomian glands] Meibom-Drüsen Teil I: Anatomie, Embryologie und Histologie der Meibom-Drüsen. *Ophthalmologie*. 2009;106:872-883. Número de licencia: 1194579-2.

1.3. Disfunción de las glándulas de Meibomio

1.3.1. Definición

La sociedad de película lagrimal y superficie ocular (*Tear Film & Ocular Surface Society*, TFOS, por sus siglas en inglés), propuso en su último informe del año 2011 la siguiente definición de disfunción de GM (DGM): *‘Anormalidad crónica y difusa de las GM, comúnmente caracterizada por la obstrucción del conducto terminal y/o cambios cualitativos y cuantitativos en la secreción glandular. El resultado es una alteración de la PL, síntomas de irritación ocular, inflamación clínica aparente, y enfermedad de la superficie ocular’*.⁶⁷

1.3.2. Clasificación

La función de las GM se ve alterada cuando se producen cambios en la secreción del meibum, dando lugar a dos tipos de DGM: alta secreción y baja secreción (Figura 1.4).⁶⁷

Cuando la secreción es alta, se denomina DGM hipersecretora, y se caracteriza por un exceso de secreción de lípidos en el borde palpebral. Este tipo de DGM no está asociado a procesos inflamatorios activos ni a pérdida de GM, sino que se asocia a dermatitis seborreica.¹⁰⁰

Cuando la secreción es baja, puede ser por una baja producción (DGM hiposecretora), o por la obstrucción de las GM. El primer caso está asociado a una atrofia de las GM,⁶⁷ y se caracteriza por un descenso en la secreción del meibum en ausencia de obstrucción. Este subtipo está asociado con el uso de lentes de contacto (LC).^{67,101} Sin embargo, el tipo de DGM más común es la obstructiva.^{25,102} Se produce por una hipertrofia del conducto de la GM y una hiperqueratinización de los orificios del borde palpebral. El conducto central de la GM se dilata debido a la presencia de restos celulares y material sebáceo.^{103,104} Los meibocitos,

encargados de la producción y secreción de meibum,¹⁰⁵ se pierden,¹⁰⁶ y aumenta la viscosidad del meibum.³ La queratinización es un proceso fisiológico de las GM ya que su desarrollo embriológico es similar al de los folículos pilosos de las pestañas, y se caracteriza por contener gránulos de queratohialina.³ Estos gránulos maduran en un tipo de célula especializada denominada queratinocito.³ En las pestañas, los queratinocitos finalizan la queratinización. Sin embargo, en las GM, las células pierden el núcleo y forman una lámina superficial con función protectora que se encuentra en el conducto central de las GM,¹⁰⁷ por lo que el proceso de queratinización se bloquea. La hiperqueratinización podría representar la eliminación del bloqueo del desarrollo de la queratinización completa en los conductos de las GM.^{3,107} Como consecuencia, la dilatación de los conductos de las GM provoca su atrofia, la GM se obstruye y disminuye la secreción del meibum por la pérdida de meibocitos.⁶⁷ Esto se traduce en síntomas de ojo seco,¹⁰⁸ deficiencias en la capa lipídica,¹⁰⁸ disminución del tiempo de ruptura lagrimal (*Tear fluorescein break up time*, TFBUT, por sus siglas en inglés),²⁷ atrofia y pérdida o disminución de GM.²⁹

Se sabe que en la DGM se altera la composición de los lípidos del meibum,⁹⁻¹² y en consecuencia, la PL, produciendo un ojo seco evaporativo.¹³ La alteración en la composición tiene consecuencias importantes, por ejemplo, modifica su punto de fusión, haciendo que la secreción sea más viscosa.³ Además, hay un aumento de ceras éster y una disminución de triglicéridos y colesterol.^{27,109} Concretamente, los pacientes con DGM tienen alrededor de un 40% menos de ésteres de colesterol que las personas sin DGM.¹¹⁰ Borchman *et al.*¹¹¹ pensaron que la razón era realmente la disminución de escualeno, que es un precursor del colesterol. Sin embargo, el mismo autor observó que la cantidad de

ésteres de colesterol en niños era similar a la de pacientes con DGM. Teniendo en cuenta que la estabilidad lagrimal es mayor en niños que en adultos, se puede descartar la relación entre el colesterol y la estabilidad lagrimal.⁹⁴ Como consecuencia, los autores sugirieron que la estabilidad lagrimal en niños se debe a que el meibum está más ordenado.⁹⁴ Sin embargo, en otro estudio realizado por los mismos autores se observó que un incremento en el orden del meibum estaba relacionado con la inestabilidad lagrimal.¹¹² En otro estudio, se observó que la insaturación de las cadenas contribuye a disminuir la estabilidad lagrimal en adultos sanos, y que el descenso de los ésteres de colesterol y el escualeno disminuye la estabilidad lagrimal en pacientes con DGM.^{113,114} Estos resultados sugieren que la relación entre la estructura del meibum y la estabilidad lagrimal no es evidente, ya que pueden influir otros factores como las proteínas o la presencia de inflamación.¹¹⁵

1.3.3. Prevalencia

La prevalencia de la DGM varía desde el 3,5% al 70%,¹⁵⁻²² siendo mayor en poblaciones asiáticas y llegando como máximo al 19,9% en poblaciones caucásicas.²⁰ Segregando por sexo y edad, la prevalencia en hombres varía entre el 40,1% y el 46,1% para menores de 60 años y entre el 47,6% y el 48,8%; mientras que en mujeres varía entre el 40,2% para menores de 60 años y el 45,3% para mayores de 60 años.²² Esta variabilidad puede deberse principalmente a dos factores; en primer lugar, la falta de un protocolo estandarizado para evaluar los síntomas y signos de la DGM; y, en segundo lugar, las diferentes distribuciones de edad entre grupos de estudio. Aunque se sospecha que la prevalencia de la DGM aumenta con la edad, de la misma manera que ocurre en la enfermedad de ojo seco (EOS), hay pocos estudios publicados que analicen la prevalencia de la DGM específicamente en diferentes edades.

Blackie *et al.*¹¹⁶ obtuvieron una prevalencia del 47,8% en adultos mayores y del 35,76% en niños y adultos jóvenes. Viso *et al.*¹¹⁷ obtuvieron una prevalencia de DGM asintomática del 21,9%, que aumentaba con la edad y también en las mujeres. Sin embargo, la prevalencia de la DGM sintomática fue del 8,6%, también aumentaba con la edad, pero no estaba relacionada con el sexo. Por último, Arita *et al.*¹¹⁸ observaron una asociación entre la prevalencia de la DGM con el sexo y la edad.

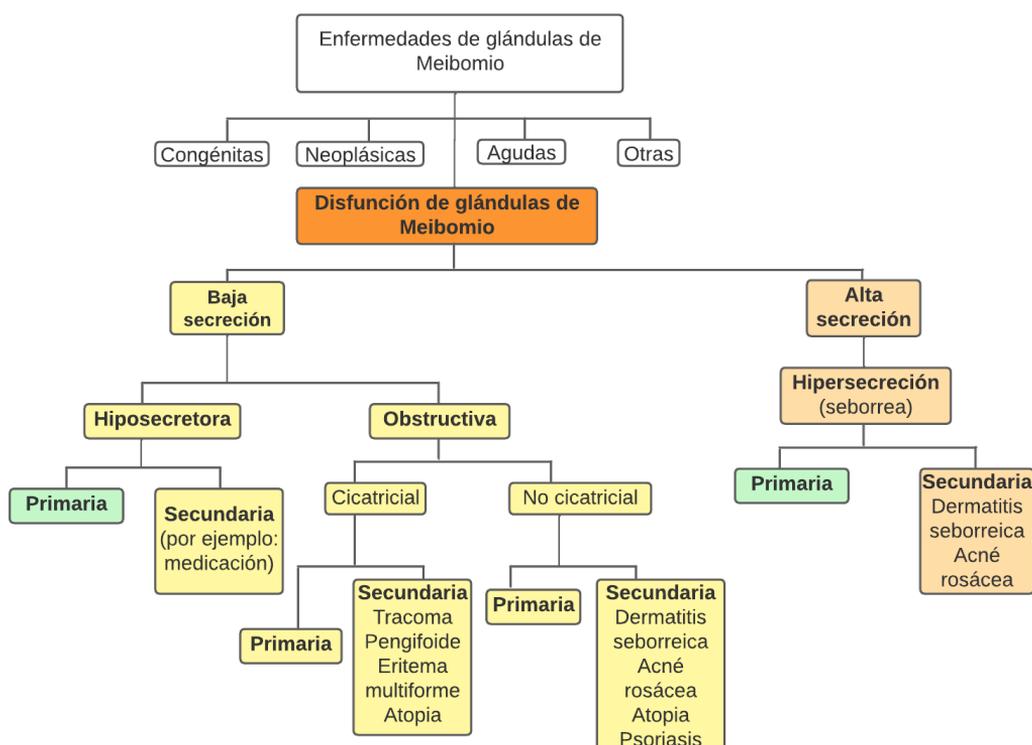


Figura 1.4. Clasificación de la disfunción de glándulas de Meibomio propuesta en el año 2011 y basada en la cantidad de meibum secretada por las glándulas. Imagen obtenida y adaptada de Nelson, J. D. *et al.* *The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the definition and classification subcommittee*. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011;52:1930–1937. Número de licencia: 1204149-2.

1.3.4. Factores de riesgo

Existen diferentes factores de riesgo para la DGM, muchos de ellos son los mismos que para el EOS.¹⁴ Pueden dividirse en factores de riesgo oftálmicos (Tabla 1.1), sistémicos (Tabla 1.2) y farmacológicos (Tabla 1.3).¹⁴

Tabla 1.1. Factores de riesgo oftalmológicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.

Factor	Referencia
Aniridia	Jastaneiah y Al-Rajhi. ¹¹⁹
Blefaritis crónica (anterior o posterior)	Auw-Haedrich y Reinhard, ¹²⁰ Jackson, ¹²¹ Mathers <i>et al.</i> , ¹¹³ McCulley <i>et al.</i> , ¹¹⁴ McCulley y Shine. ¹¹⁵
Uso de LC	Arita <i>et al.</i> , ¹⁰¹ Marren, ¹²⁵ Molinari y Stanek, ¹²⁶ Ong y Larke. ¹²⁷ Hom <i>et al.</i> , ¹²⁸ Osae <i>et al.</i> , Pucker <i>et al.</i> ¹²⁹
<i>Demodex folliculorum</i>	Czepita <i>et al.</i> , ¹³⁰ Kheirkhah <i>et al.</i> ¹³¹
Tatuajes palpebrales	Kojima <i>et al.</i> ¹³²
Síndrome del párpado laxo	Gonnering y Sonneland. ¹³³
Conjuntivitis papilar gigante	Mathers y Billborough, ¹³⁴ Martin <i>et al.</i> , ¹³⁵ Molinari y Stanek. ¹²⁶
Ictiosis	Baden y Imber. ¹³⁶
Degeneración corneal nodular de Salzmann	Farjo <i>et al.</i> ¹³⁷
Tracoma	Bron y Tiffany. ¹⁰⁸

LC: lentes de contacto

Tabla 1.2. Factores de riesgo sistémicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.

Factor	Referencia
Edad	Den <i>et al.</i> , ⁵⁴ DEWS, ¹³⁸ Hykin y Bron, ¹³⁹ Schaumberg <i>et al.</i> , ¹⁴⁰ Schaumberg <i>et al.</i> , ¹⁴¹ Sullivan <i>et al.</i> ⁷
Deficiencia de andrógenos	Krenzer <i>et al.</i> , ¹⁴² Sullivan <i>et al.</i> , ¹⁴³ Sullivan <i>et al.</i> ¹⁴⁴
Atopia	Bron <i>et al.</i> ⁸⁶
Hiperplasia benigna de próstata	Schaumberg <i>et al.</i> ¹⁴⁰
Penfigoide cicatricial	Bron y Tiffany. ¹⁰⁸
Síndrome de insensibilidad androgénica completa	Cermak <i>et al.</i> , ¹⁴⁵ Sullivan <i>et al.</i> ¹⁴⁶
Lupus eritematoso discoide	Ena <i>et al.</i> ¹⁴⁷
Síndrome de la displasia ectodérmica	Kaercher. ¹⁴⁸
Trasplante de células hematopoyéticas	Ogawa <i>et al.</i> ⁶⁴
Hipertensión	Schaumberg <i>et al.</i> ¹⁴⁰
Menopausia	Mathers <i>et al.</i> , ¹⁴⁹ Sullivan <i>et al.</i> ¹⁴⁴
Enfermedad de Parkinson	Tamer <i>et al.</i> ¹⁵⁰
Penfigoide	Irvine <i>et al.</i> ¹⁵¹
Síndrome de ovario poliquístico	Yavas <i>et al.</i> ¹⁵²
Psoriasis	Horwath-Winter <i>et al.</i> , ¹⁵³ Zengin <i>et al.</i> ¹⁵⁴
Rosácea	Akpek <i>et al.</i> , ¹⁵⁵ Alvarenga y Mannis, ¹⁵⁶ Zengin <i>et al.</i> , ¹⁵⁷ Zuber, ¹⁵⁸ Zuber. ¹⁵⁹
Síndrome de Sjögren	Goto <i>et al.</i> , ¹⁶⁰ Krenzer <i>et al.</i> , ¹⁴² Pflugfelder <i>et al.</i> , ¹⁶¹ Shimazaki <i>et al.</i> , ¹⁶² Sullivan <i>et al.</i> ¹⁴⁴
Síndrome de Stevens-Johnson	Sotozono <i>et al.</i> ¹⁶³
Necrosis epidérmica tóxica	Di Pasquale <i>et al.</i> , ¹⁶⁴ Sotozono <i>et al.</i> ¹⁶³
Síndrome de Turner	Bron y Tiffany. ¹⁰⁸

Tabla 1.3. Factores de riesgo farmacológicos de la disfunción de glándulas de Meibomio.

Factor	Referencia
Terapia con Isotretinoína	Caffery y Josephson, ¹⁶⁵ Egger <i>et al.</i> , ¹⁶⁶ Mathers <i>et al.</i> ¹⁶⁷
Antiandrógenos	Krenzer <i>et al.</i> , ¹⁴² Sullivan <i>et al.</i> , ¹⁴³ Sullivan <i>et al.</i> ¹⁴⁴
Antidepresivos	Chia <i>et al.</i> , ¹⁶⁸ Moss <i>et al.</i> , ¹⁶⁹ Schaumberg <i>et al.</i> ¹⁴⁰
Antihistamínicos	Moss <i>et al.</i> , ¹⁶⁹ Ousler <i>et al.</i> ¹⁷⁰
Terapia para la hiperplasia benigna de próstata	Barabino <i>et al.</i> , ¹⁷¹ Creuzot <i>et al.</i> , ¹⁷² Kokke <i>et al.</i> , ¹⁷³ Macsai, ¹⁷⁴ Miljanovic <i>et al.</i> , ¹⁷⁵ Pinna <i>et al.</i> , ⁶⁸ Rashid <i>et al.</i> , ¹⁷⁶ Viau <i>et al.</i> ¹⁷⁷
Terapia para la postmenopausia	Chia <i>et al.</i> , ¹⁶⁸ Erdem <i>et al.</i> , ¹⁷⁸ Lin <i>et al.</i> , ¹⁷ Schaumberg <i>et al.</i> ¹⁷⁹
Terapia tópica para el glaucoma	Soriano <i>et al.</i> ¹⁸⁰

1.4. Diagnóstico de la disfunción de glándulas de Meibomio y de la enfermedad de ojo seco

La DGM puede aparecer de forma aislada o afectar a otras estructuras de la SO, causando EOS.²³ El diagnóstico de la DGM se basa en la evaluación de la secreción de las GM y en su morfología, ya que la enfermedad puede presentarse de forma asintomática.²³ Siguiendo estos criterios, se definen las fases de la DGM recogidas en la Tabla 1.4.⁶⁵

Tabla 1.4. Fases de la disfunción de glándulas de Meibomio de acuerdo con la severidad de síntomas y signos.

Fase	Grado de DGM	Síntomas	Tinción corneal
1	+ (expresión y calidad de la secreción mínimamente alteradas)	Ninguno	Ninguna
2	++ (expresión y calidad de la secreción medianamente alteradas)	De mínimos a moderados	De ninguna a mínima
3	+++ (expresión y calidad de la secreción moderadamente alteradas)	Moderados	De media a moderada, localizada en la periferia
4	++++ (expresión y calidad de la secreción severamente alteradas)	Marcados	Marcado, localizada en el centro
Enfermedad severa	Acompañado de alteraciones en la superficie ocular y/o los párpados		

Obtenida y adaptada de Geerling, G. *et al.* *The international workshop on meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction.* *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011;52:2050–2064.

1.4.1. Síntomas

Cuando la DGM aparece de forma aislada en su fase preclínica es asintomática.^{103,181–183} Sin embargo, también puede ocurrir que la sintomatología no tenga relación con el daño en la SO.¹¹⁷ En su forma sintomática, los pacientes refieren síntomas relacionados con la EOS, como sensación de cuerpo extraño, fotofobia, visión borrosa o dolor.^{24–26} Otros síntomas referidos por pacientes con DGM son fatiga ocular, sequedad, incomodidad ocular, picor o enrojecimiento.¹⁸⁴

Hasta ahora se ha asumido que sus síntomas son los mismos que los de la EOS evaporativa, ya que no existe un cuestionario específico para la DGM.²³ Dentro de los cuestionarios para la EOS, se diferencian aquellos que no ofrecen una puntuación específica para determinar la presencia de EOS de aquellos que sí lo hacen y, por otro lado, estarían aquellos cuestionarios que evalúan los cambios en la sintomatología.

En el primer grupo estaría el *Dry Eye Questionnaire* (DEQ), cuyas preguntas hacen referencia a la frecuencia e intensidad de los síntomas y es específico para el ojo seco acuodeficiente;¹⁸⁵ y el *Dry Eye-Related Quality-of-Life Score* (DEQS), cuyas preguntas son sobre frecuencia y severidad de los síntomas.¹⁸⁶

Por otro lado, se encuentran los cuestionarios que ofrecen una puntuación determinada para determinar si existe EOS. En esta categoría estarían el *5-Item Dry Eye Questionnaire* (DEQ-5),¹⁸⁷ que define una puntuación mayor o igual a 6 como EOS, y mayor o igual a 12 como sospecha de síndrome de Sjögren. Este cuestionario también pregunta sobre frecuencia e intensidad de los síntomas y es específico del ojo seco acuodeficiente. El cuestionario *Impact of Dry Eye on Everyday Life* (IDEEL),¹⁸⁸ que clasifica en función de la severidad de los síntomas como leve si la puntuación se encuentra entre 40 y 50, moderado entre 51 y 63, y severo por encima de 64. El cuestionario de McMonnies,¹⁸⁹ que determina la presencia de EOS si la puntuación es mayor a 14,5 y pregunta solo por la frecuencia de los síntomas. Finalmente, el cuestionario más utilizado es el *Ocular Surface Disease Index* (OSDI, Allergan Inc., Irvine, California, Estados Unidos). Su puntuación varía de 0 a 100, considerando a un sujeto asintomático si su puntuación está entre 0 y 12, con síntomas leves entre 13 y 22, moderados entre 23 y 32,

y severos entre 33 y 100. Un cambio de 7 puntos se considera clínicamente significativo.¹⁹⁰

Por último, para evaluar cambios en la sintomatología, se encuentra el *Symptom Assessment in Dry Eye* (SANDE).¹⁹¹ Se trata de una escala visual analógica horizontal de 100 mm que cuantifica la severidad (de muy leve a muy severa) y la frecuencia (de ocasionalmente a continuamente) de los síntomas y está recomendado para la práctica clínica. Por otro lado, el *Change in dry eye symptoms questionnaire* (CDES-Q).⁹³ valora si los sujetos se encuentran mejor, peor o igual con respecto a una situación anterior (antes de un tratamiento, una visita previa, la instilación de un colirio...). Si su respuesta es mejor o peor, deben cuantificar esa mejoría o empeoramiento en una escala de 0 a 10, donde 0 significa 'ligeramente mejor o peor' y 10, 'extremadamente mejor o peor' (CDES-Q-2).⁹³ Además, está el *Standard Patient Evaluation of Eye Drenes* (SPEED),¹⁹² que también hace referencia a la frecuencia e intensidad, estando este recomendado para ojo seco evaporativo relacionado con DGM específicamente.

La TFOS en su informe 'DEWS II' de 2017 recomienda los cuestionarios OSDI o DEQ-5 para detectar la presencia de EOS, y el cuestionario SANDE para evaluar cambios.¹⁹³

1.4.2. Signos

Los signos principales de la DGM son los cambios en la morfología del borde palpebral, la alteración de la secreción del meibum (Figura 1.5) y la pérdida de GM.²³ Otros signos que pueden acompañar a la DGM son: obstrucción de los orificios del borde palpebral (Figura 1.6), queratitis punteada superficial (Figura 1.7), aumento de la evaporación y, como

consecuencia, disminución de la estabilidad lagrimal e hiperosmolaridad.^{23,184}

Dentro de los cambios en la morfología del borde palpebral destacan la irregularidad, la congestión vascular o la presencia de telangectasias, la obstrucción de los orificios y el desplazamiento de la unión mucocutánea.¹⁰¹ Además, el borde palpebral puede estar engrosado, redondeado, o hiperqueratinizado (Figura 1.8).²³



Figura 1.5. Ejemplo de alteración leve en la viscosidad del meibum, observada en lámpara de hendidura. Fuente: IOBA.



Figura 1.6. Ejemplo de obstrucción de los orificios del borde palpebral del párpado superior, observada en lámpara de hendidura. Fuente: IOBA.



Figura 1.7. Ejemplo de queratitis punteada superficial, observada bajo tinción con fluoresceína, luz azul cobalto y filtro amarillo en lámpara de hendidura. Fuente: IOBA.



Figura 1.8. Ejemplo de cambios morfológicos en el borde palpebral (irregularidad, telangectasias, engrosamiento), observados en lámpara de hendidura. Fuente: IOBA.

Con respecto a la alteración de la secreción del meibum, para el diagnóstico de la DGM se evalúa la calidad y la expresión de la secreción

del meibum. La calidad se refiere a su apariencia, siendo más opaca, más viscosa o incluso llegando a desaparecer en pacientes con DGM.^{86,122} La expresión de la secreción hace referencia a la cantidad de presión que ha de realizarse en el borde palpebral para obtener la secreción,^{104,162,194} o a la cantidad de GM que secretan meibum.^{70,181,182} Cuanto mayor sea la presión ejercida y/o menor sea el número de GM que secretan meibum, mayor será el grado de DGM. Al alterarse la composición del meibum, la capa lipídica de la PL se ve comprometida y disminuye la estabilidad lagrimal.^{13,195,196} Tanto la calidad como la expresión de la secreción se miden con escalas graduadas.^{86,162,197,198}

La pérdida o disminución de GM se define como la pérdida de tejido glandular que puede observarse mediante la técnica de meibografía (Figura 1.9).^{27,28} Esta pérdida aumenta con la edad en sujetos sanos,²⁷ pero también aumenta en pacientes con DGM.²³

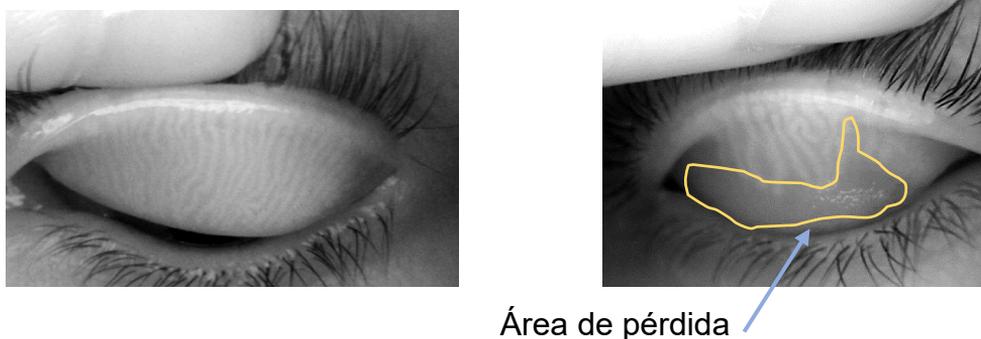


Figura 1.9. Ejemplo de pérdida de glándulas de Meibomio (GM). La imagen de la izquierda representa un párpado sin pérdida de GM, mientras que en la imagen de la derecha se observa una zona de pérdida en la parte inferior, delimitada por la línea amarilla. Fuente: IOBA.

La TFOS recomienda seguir estos criterios para el diagnóstico de la DGM: presencia de síntomas oculares, anormalidad anatómica en los orificios del borde palpebral (presencia de al menos uno de los siguientes signos: telangectasias, desplazamiento de la unión muco-cutánea, y/o irregularidad) y obstrucción de las GM.²³

1.4.3. Meibografía

La meibografía es una técnica utilizada para tomar imágenes de la parte interna del párpado y así poder observar las GM.²³ La principal ventaja que ofrece esta técnica es la evaluación de la morfología de las GM en vivo de una manera mínimamente invasiva. La incorporación de esta técnica en la práctica clínica diaria puede mejorar el diagnóstico de la DGM.

1.4.3.1. *Definición*

La meibografía fue introducida por Tapie en el año 1977,¹⁹⁹ aunque el término ‘meibografía’ aparece por primera vez utilizado por Mathers *et al.*¹²² en 1991. Consistía en iluminar directamente la zona interna del párpado y tomar fotografías. Esta técnica se denomina transiluminación. Este tipo de iluminación resultaba molesta para el paciente y, además, el área fotografiada era muy pequeña.²⁹ Con el fin de solucionar estos problemas, Arita *et al.*²⁹ desarrollan en 2008 la meibografía infrarroja de no contacto (Figura 1.10).

El sistema desarrollado por Arita consistía en una lámpara de hendidura a la que se le añadía un filtro de luz infrarroja y sistema de captación de imágenes sensible a la luz infrarroja (Figura 1.11). Esta técnica es menos molesta, ya que la luz infrarroja no es detectada por el paciente, y además, es más rápida.²⁹ En 2013, el mismo grupo desarrolló un sistema móvil que permitía explorar también a bebés y niños.²⁰⁰ Esta

técnica ha significado un antes y un después en la investigación de las GM, hasta tal punto que los sistemas que se han desarrollado posteriormente para realizar meibografías, como el topógrafo Keratograph 5M, o el interferómetro Lipiview II (TearScience, Morrisville, Carolina del Norte, Estados Unidos), se basan en esta tecnología.²⁰¹⁻²⁰³



Figura 1.10. Comparación entre la técnica de transiluminación y la iluminación con luz infrarroja. En la imagen de la izquierda se observan las GM en el párpado inferior mediante transiluminación. En la imagen de la derecha, se observa el párpado superior evertido con la lámpara de hendidura (A) y bajo iluminación infrarroja (B). Imagen obtenida con permiso de Pult H, Nichols JJ. *A review of meibography*. *Optom Vis Sci* 2012(5);89:760-9. Número de licencia: 5251250989241.

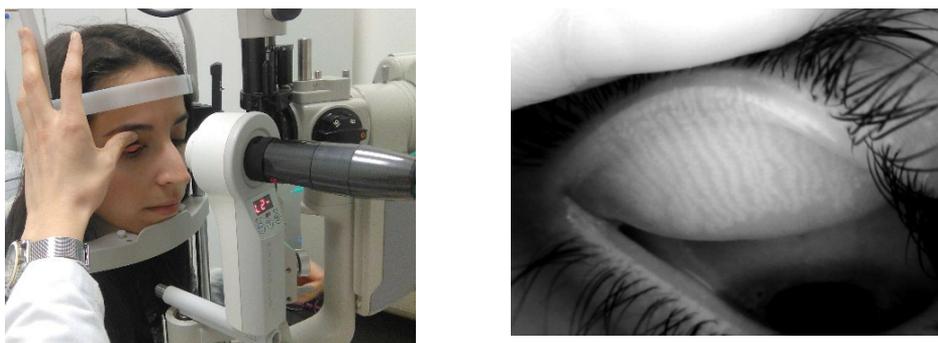


Figura 1.11. Meibografía de no contacto. A la izquierda de la imagen se observa el sistema de iluminación de luz infrarroja al que se acopla la cámara fotográfica (Easy Tear View+, EASYTEAR s.r.l, Trento, Italia), todo ello integrado en la lámpara de hendidura (modelo SL-D7, TOPCON corporation, Tokio, Japón). El párpado superior del paciente se evierte para obtener la imagen de la derecha. Las glándulas de Meibomio se observan en color gris claro. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

1.4.3.2. Clasificación de imágenes de meibografía

Actualmente, la meibografía es el único método desarrollado para observar y analizar la morfología de las GM.²⁰⁰ Sin embargo, existen discrepancias en la interpretación de las imágenes.⁷⁵ El método más utilizado es evaluar el grado de pérdida de GM mediante escalas subjetivas, como la escala *meiboscore* desarrollado por Arita *et al.*,²⁹ y la escala *meiboscale* desarrollada por Pult *et al.*³⁰

La escala *meiboscore* puntúa el área de pérdida de 0 a 3 en cada párpado, siendo 0 equivalente a ausencia de pérdida, 1 equivalente a menos de un tercio de área de pérdida, 2 equivalente a un área de pérdida entre un tercio y dos tercios, y 3 equivalente a más de dos tercios. La puntuación total de cada ojo varía de 0 a 6.²⁹ La escala *meiboscale* puntúa el área de pérdida de 0 a 4, siendo 0 equivalente a un 0% de pérdida, 1 equivalente a menos de un 25% de pérdida, 2 equivalente a entre un 25% y un 50% de pérdida, 3 equivalente a entre un 51% y un 75% de pérdida, y 4 si el área de pérdida es mayor al 75% (Figura 1.12).^{30,204}

Con respecto a otros parámetros medibles diferentes al área de pérdida de GM, algunos estudios han medido la longitud de las GM,³¹⁻³⁴ o su anchura.³²⁻³⁵ Sin embargo, no existe un consenso a la hora de evaluar estos parámetros ya que algunos de los estudios incluyen todas las GM,^{32,33} otros solo incluyen las tres³⁴ o cinco centrales.^{31,35} Otros grupos han utilizado el término ‘tortuosidad’ o ‘distorsión’ para referirse a aquellas GM que no siguen una línea recta vertical a lo largo del párpado. Con respecto a este parámetro, tampoco existe un consenso ya que algunos estudios evalúan la tortuosidad como presencia o ausencia,⁴² mientras otros la definen como una angulación igual o mayor a 45°.^{34,36-}

^{39,205} Algunos autores como Arita *et al.*³⁷ han desarrollado una escala a partir de este criterio (0 = sin distorsión, 1 = de 1 a 4 GM distorsionadas, 2 = más de 5 GM distorsionadas), mientras otros como Zhao *et al.*³⁹ desarrollan otra escala en combinación con el área de GM distorsionadas.

Finalmente, algunos autores han descrito los cambios que pueden sufrir las GM en su morfología, como el acortamiento, el solapamiento entre ellas, o la forma de garfio, en población asintomática y con EOS (Tabla 1.5).^{39,206}

Por todas las razones mencionadas anteriormente, es necesario desarrollar un método objetivo no solo para medir el área de pérdida de GM, si no también otros parámetros como la longitud o la tortuosidad, o las distintas formas que pueden adoptar las GM, ya que la DGM está asociada a ciertos cambios en la morfología de las GM, como el acortamiento o la irregularidad.^{42,184,207}

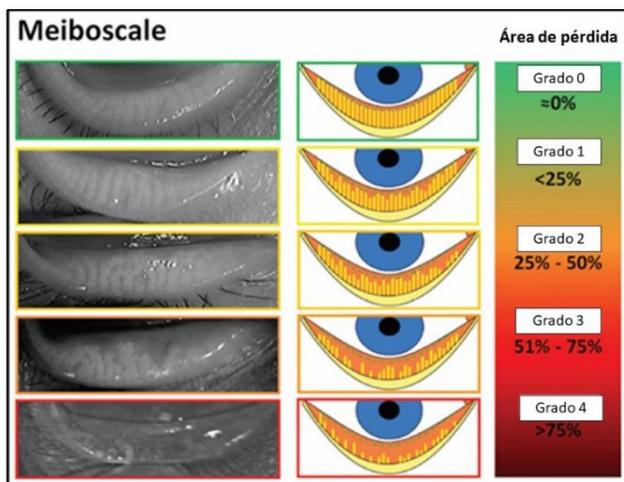
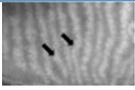
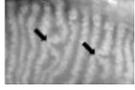
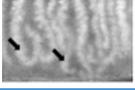
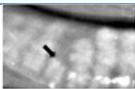
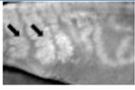
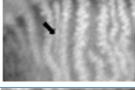
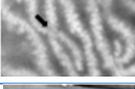
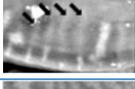
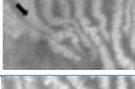


Figura 1.12. *Meiboscale* para graduar la pérdida de glándulas de Meibomio. Imagen obtenida y adaptada con permiso de Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci* 2012(5);89:760-9. Número de licencia: 5251250989241.

Tabla 1.5. Ejemplos de las formas que pueden adoptar las glándulas de Meibomio (GM) en pacientes con ojo seco moderado y severo.

Características morfológicas	Definición e identificación	Ejemplo
Distorsión	No siguen el patrón de líneas paralelas de las GM normales. Es un grado menor que la tortuosidad	
Tortuosidad	Deben tener al menos una configuración tortuosa prominente en la glándula	
Con forma de garfio	Terminan en una forma curva similar a un garfio	
Pérdida	Se observa un espacio vacío donde debería estar una GM. Estos espacios forman parte del área de pérdida, junto con las GM acortadas, si las hubiera	
Acortamiento	No tiene la extensión de una GM normal	
Engrosamiento	Su anchura es igual o superior a dos veces la anchura de una GM normal	
Adelgazamiento	Su anchura es igual o menor a la mitad de anchura de una GM normal	
Solapamiento	Una GM se cruza con la subyacente, por encima o por debajo	
GM fantasma	GM con menor reflectividad	
Forma de renacuajo	Engrosadas en el borde palpebral pero adelgazadas en la parte final	
Espacio anormal	El espacio que separa a dos GM adyacentes es al menos el doble que el espacio normal	
Zonas esponjosas	Áreas amorfas de sustancia blanca donde debería haber GM	
Sin extensión al borde palpebral	Su longitud no llega al borde palpebral	

Obtenida y adaptada de Daniel, E. et al. *Grading and baseline characteristics of meibomian glands in meibography images and their clinical associations in the Dry Eye Assessment and Management (DREAM) study*. *Ocul. Surf.* 2019;17:491–501. Con permiso de The Ocular Surface. Número de licencia: 5250211421332.

1.4.3.3. Métodos de análisis

Al igual que no existe un consenso para evaluar las características morfológicas de las GM, tampoco existe una única técnica validada para realizar su análisis, es decir, el método de medida.^{28,30–32,38–42,31,33–36,40–43}

La técnica utilizada en la mayoría de los estudios consiste en delimitar manualmente el área total del párpado y el área donde no hay GM y obtener el área de GM restando ambas (Figura 1.13). El software *Image J* también se ha utilizado para medir la longitud y la anchura de las GM.^{31–}

35

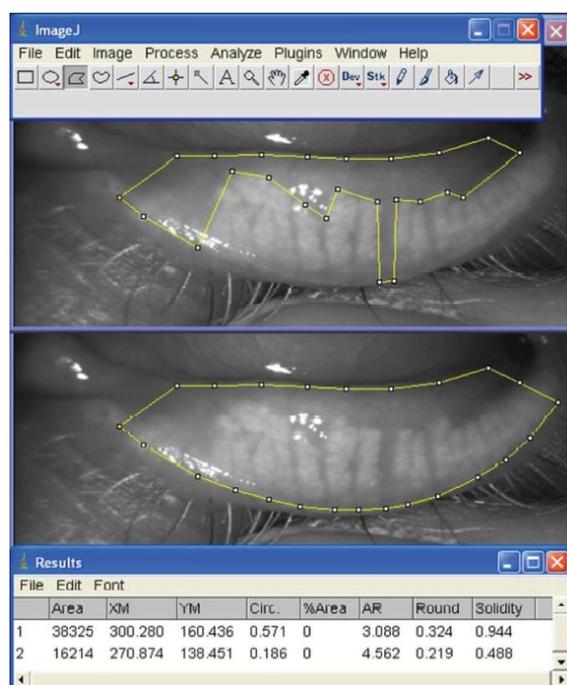


Figura 1.13. Cálculo del área de pérdida de glándulas de Meibomio con *Image J*. En la parte inferior de la imagen se observa el área total del párpado inferior, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 38325. En la parte superior se observa el área donde no aparecen las glándulas, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 16214. Imagen obtenida con permiso de Pult H, Nichols JJ. A review of meibography.

Optom Vis Sci 2012(5);89:760-9. Número de licencia: 5251250989241.

Nichols *et al.*⁴⁰ midieron la repetibilidad intra e inter observador de esta técnica, analizando meibografías de 290 pacientes con dos observadores. La clasificación de las imágenes se basaba en la siguiente escala: 1 = sin GM parciales, 2 < menos de un 25% de GM parciales, 3 = entre un 25 y un 75% de GM parciales, y 4 > 75% de GM parciales.

Observaron que la repetibilidad intra observador era mayor ya que existía un sesgo entre observadores en el número de GM detectadas. Pult *et al.*⁴¹ compararon el análisis cuantitativo utilizando *Image J* (en escala de 0 a 100) con escalas graduadas de grado de pérdida de GM, utilizando el *meiboscore*²⁹ (0 – 3; 0 = sin pérdida, < 33%, 2 = del 34 al 66%, 3 > 66%) y el *meiboscale*³⁰ (0 – 4: 0 = sin pérdida, 1 < 25%, 2 = del 26 al 50%, 3 = del 52 al 75%, 4 > 75%).^{29,41} Los resultados reflejaron un mayor acuerdo utilizando el *Image J* para calcular el porcentaje exacto de 0 a 100. Sin embargo, aunque esta técnica sea más repetible que el uso de escalas graduadas es una técnica laboriosa, semi objetiva y con una repetibilidad moderada.^{32,40 29}

Con el fin de mejorar el análisis de meibografías, otros autores han propuesto softwares automáticos o semi automáticos capaces de detectar las GM con mínima intervención manual por parte del observador.^{32,44–51} Una vez detectadas las GM, algunos algoritmos clasifican al individuo como sano o enfermo.^{32,48,208} Koh *et al.*³² comparan la clasificación sano/enfermo realizada por dos observadores enmascarados, y la clasificación del software, definiendo ‘sano’ como un patrón de líneas finas y largas distribuidas por todo el párpado, y ‘enfermo’ como al menos un 50% de pérdida de GM. Obtuvieron una especificidad del 96,1% y sensibilidad del 97,9% y no se ve afectado por la variabilidad inter-observador. La limitación del estudio es que las imágenes que se encuentran en una situación intermedia no pueden clasificarse. En este aspecto, el estudio de Celik *et al.*⁴⁸ supone un avance ya que su software sí permite detectar casos intermedios. Otros softwares se han desarrollado para medir el área de pérdida de GM. Shehzad *et al.*⁵⁰ desarrollaron un software semi automático en el que un observador indica el área a analizar y el software realiza el análisis en

menos de un minuto. Otros autores han publicado procesos totalmente automáticos para calcular el área de pérdida de GM. Por ejemplo, el de Arita *et al.*⁵¹ detecta automáticamente los bordes del párpado y el área de GM. Wang *et al.*⁴⁹ aplican técnicas de *deep learning*, para segmentar y posteriormente calcular el área de atrofia de las GM. Posteriormente han aparecido otros softwares automáticos o semi automáticos capaces de calcular otros parámetros como la longitud, anchura y tortuosidad.^{44–46} Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ desarrollaron un método que detectaba automáticamente el área del párpado y las GM, además de calcular el área de pérdida, la longitud, la anchura y la irregularidad. Estos autores compararon este método nuevo con la clasificación subjetiva del grado de pérdida de GM y concluyen que el nuevo método es menos variable al ser más objetivo. Otro ejemplo es el de Dai *et al.*,⁴⁵ que detecta automáticamente las GM, aplicando técnicas de *deep learning*, y calcula el área de pérdida, la longitud y la anchura y además incluye el concepto de tortuosidad. Otro ejemplo de *deep learning* es el algoritmo de Setu *et al.*,⁸² validado en ambos párpados y con una precisión del 95% para las medidas de longitud, anchura y tortuosidad. También Xiao *et al.*⁵² incluye la tortuosidad, además del área, la longitud y la anchura, en su software de segmentación automática. Aunque estos métodos automáticos han supuesto un gran avance en el estudio de la morfología de las GM, algunos de ellos aún necesitan correcciones manuales,^{32,51} mientras que otros solo analizan el párpado superior,^{44,52} o necesitan una muestra más grande para ser validados.⁵²

Además, el término ‘tortuosidad’ o ‘irregularidad’ tiene diferentes definiciones en cada estudio. Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ utilizan una GM vertical como referencia y definen la irregularidad como las diferencias entre la GM de referencia y el resto de las glándulas. Dai *et al.*⁴⁵ utilizan

la mínima distancia entre los extremos de la GM (Figura 1.14) para medir la tortuosidad. Sin embargo, este término es la relación entre la longitud total de la GM y la distancia que hay entre los dos extremos de la glándula, en línea recta. Utilizando este término no es posible distinguir aquellas GM con muchos y pequeños cambios de dirección (en forma de zig-zag) de aquellas no tortuosas.

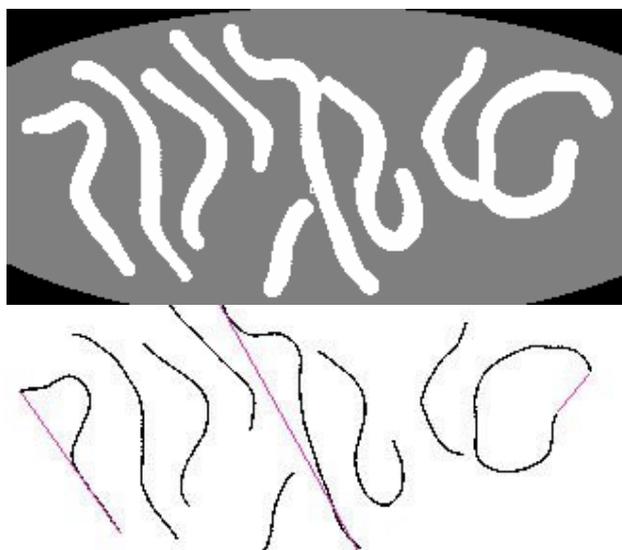


Figura 1.14. Análisis de meibografía. La imagen de arriba representa las glándulas en color blanco y el área del párpado en color gris. En la imagen de abajo se representa la extensión total de las glándulas (líneas negras) y la mínima distancia entre los extremos, (en color morado). La tortuosidad ha sido definida por Dai *et al.*⁴⁵ y Xiao *et al.*⁵² como la

relación entre la longitud total y la mínima distancia entre los extremos.

1.5. Relación entre la función y la morfología de las glándulas de Meibomio

Uno de los problemas que aparecen en la práctica clínica diaria en el diagnóstico de la EOS es la falta de correlación entre los síntomas referidos por el paciente y los signos encontrados durante la exploración clínica.²⁰⁹trados durante la exploración clínica.²⁰⁹ Este diagnóstico se complica aún más cuando no hay relación entre la función y la morfología de las GM. Existe cierta controversia en este aspecto en la literatura. Mientras algunos autores encuentran relación entre algunos

parámetros,^{29,39,43,53,210–213} otros aseguran que la morfología y la función de las GM evolucionan de manera independiente.^{54,205,214}

Por este motivo, es necesario describir los cambios en la morfología de las GM a lo largo de la vida en primer lugar en sujetos sanos para después categorizar los cambios específicos de diferentes condiciones relacionadas con la DGM.

1.5.1. Relación con la edad en sujetos sanos

Siguiendo las recomendaciones de la TFOS,²³ el diagnóstico de la DGM debe basarse en los síntomas oculares, el estado del borde palpebral, y la función y morfología de las GM. Sin embargo, existen cambios asociados a la edad en el borde palpebral y en las GM en ausencia de síntomas oculares. Estos cambios suelen estar asociados a un proceso inflamatorio relacionado con la edad denominada inmunosenescencia. Este término hace referencia al proceso por el cual las células del sistema inmune disminuyen o sufren alteraciones asociadas a la edad, lo que aumenta el riesgo de infecciones.²¹⁵ Este proceso ocurre por varias razones. En primer lugar, la inmunidad innata, responsable de la respuesta inmune primaria ante una infección, es menos efectiva con la edad.²¹⁶ En segundo lugar, los órganos que forman las barreras físicas del organismo ante una infección, como son la piel o las mucosas, también sufren un deterioro con la edad.²¹⁶ En tercer lugar, la respuesta inmune adaptativa, más específica que la innata, está principalmente formada por linfocitos T, cuya cantidad también disminuye con la edad.²¹⁶

Respecto a la función de las GM y sus cambios con la edad, varios autores han descrito un aumento de las anomalías del borde palpebral,⁵⁴ como engrosamiento,⁵³ telangectasias,^{86,139,210} e

hiperqueratinización.^{86,139} Mucho más documentado está el empeoramiento de la secreción del meibum con la edad,^{29,31,53,54,210} especialmente porque aumenta la viscosidad por motivos fisiológicos.^{86,139,217}

Con respecto a los cambios de la morfología de las GM con la edad existe bastante controversia. Por un lado, hay un gran consenso sobre el aumento del área de pérdida de GM asociado a la edad.^{29,31,53,54} Sin embargo, no está claro a qué edad empiezan a producirse los cambios. Yeotikar *et al.*²¹⁰ afirman que es a partir de los 25 años, Arita *et al.*²⁹ lo sitúan a partir de los 20 años en hombres y 30 en mujeres; mientras que Mizoguchi *et al.*,²¹² y Gupta *et al.*²⁰⁵ han descrito cierto grado de pérdida en adolescentes. Shirakawa *et al.*⁸¹ obtuvieron como resultado que los menores de 3 años no tienen ningún grado de pérdida, llegando a la conclusión de que nacemos con todas las GM y éstas se van perdiendo con la edad. Sin embargo, en un estudio realizado por Wu *et al.*,³⁵ el grupo de adolescentes mostró un mayor número de GM y un mayor porcentaje de área que el grupo de los niños; mientras que Tichenor *et al.*²¹⁴ no observaron diferencias en el área de pérdida entre adolescentes y niños.

Por este motivo, es necesario tener en cuenta el factor de la edad y los cambios oculares asociados a ella en el diagnóstico de la DGM. También hay otros parámetros de la SO que se ven afectados por la edad: disminuye el espesor de la capa lipídica,³⁹ aumenta la evaporación y, por tanto, disminuye la estabilidad lagrimal;^{27,29,53,54,210,211,218,219} disminuyendo también la producción lagrimal,^{29,53,54} y aumentando la tinción corneal y conjuntival, así como la hiperemia.^{53,210}

1.5.2. Enfermedad de ojo seco

De acuerdo con la última revisión de la TFOS publicada en 2017, la EOS se define como *‘una enfermedad multifactorial de la superficie ocular, caracterizada por una pérdida de homeostasis de la PL, acompañada de síntomas oculares, y en la que la inestabilidad lagrimal, la hiperosmolaridad, la inflamación y el daño ocular, y la anormalidad sensorial juegan un papel etiológico’*.⁹⁶ La EOS se clasifica como hiposecretora cuando hay una alteración en la glándula lagrimal principal, y como evaporativa cuando las alteraciones afectan al párpado y las GM. Aunque el tipo evaporativo es el más frecuente, no son excluyentes, surgiendo así un tercer tipo de ojo seco de origen mixto.⁹⁶

La DGM obstructiva es la causa más común del ojo seco evaporativo.⁵⁵ Inicialmente, puede aparecer de forma asintomática y sin que se produzcan cambios visibles en el borde palpebral. Esta fase inicial se denomina DGM obstructiva no obvia, y es necesario evaluar la secreción del meibum para su diagnóstico.²²⁰ Cuando la DGM es más severa, hay una disminución de lípidos en la PL, lo que le hace ser más inestable, causando un ojo seco de subtipo evaporativo.⁶⁷ Se define como EOS evaporativo cuando la producción lagrimal no está alterada y, en ese contexto, el status de las GM definirá su contribución a la enfermedad.²³

Por este motivo, en presencia de síntomas oculares se deben tener en cuenta dos aspectos: por un lado, el estado de las GM, evaluando el borde palpebral, el grado de pérdida, la expresión del meibum, la capa lipídica de la PL, y la evaporación lagrimal. Por otro lado, para diagnosticar el ojo seco evaporativo se debe evaluar, además de todo lo

anterior, la producción lagrimal y el daño en la SO derivado del aumento de la evaporación lagrimal.²³

1.5.3. Enfermedad de injerto contra huésped con afectación ocular

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una enfermedad de origen inmunológico y constituye de las principales complicaciones del trasplante de células hematopoyéticas.⁶² Esta terapia es utilizada en alteraciones de la función de la médula ósea y enfermedades neoplásicas (tumores malignos).⁶³ El trasplante de células hematopoyéticas es la inmunoterapia celular más utilizada.²²¹ El procedimiento consiste en la administración de estas células para reemplazar el sistema hematopoyético del receptor.²²² Es un procedimiento de varios pasos: la obtención de células madre hematopoyéticas de la médula ósea, de sangre periférica o de sangre del cordón umbilical;²²² el tratamiento del paciente con un régimen de acondicionamiento; la infusión de células madre hematopoyéticas; y la generación de un nuevo sistema hematopoyético e inmunitario.²²¹ La enfermedad se produce debido a una reacción exagerada de los linfocitos del donante hacia los antígenos del receptor,²²³ y puede afectar a diferentes órganos como la piel, el sistema gastro-intestinal, el hígado, los pulmones, el esófago y las mucosas orales y oculares,²²⁴ provocando inflamación y fibrosis de estos tejidos y dando lugar a un fallo orgánico.²²⁵

Para que el injerto de células madre hematopoyéticas del donante tenga éxito, el sistema inmunitario del huésped debe ser erradicado y suprimido.²²⁶ Para ello, previo al trasplante es necesario someter al paciente a un régimen de acondicionamiento en el que se prescriben una serie de tratamientos de quimioterapia, radioterapia y/o terapia anti supresora con el objetivo eliminar la inmunidad del huésped, preparando

así la médula ósea para las nuevas células y además erradicar las células tumorales.^{89,90}

La EICH se puede presentar de forma aguda o crónica. La forma aguda; tiene una incidencia del 7,2% de los pacientes trasplantados,^{227,228} mientras que la forma crónica afecta a entre un 30% y un 70% de los pacientes sometidos a este trasplante.²²⁹ Esta enfermedad es la principal causa de muerte en estos sujetos trasplantados.²³⁰ La prevalencia de la afectación ocular oscila entre un 30% y un 60% en pacientes trasplantados, y entre un 60% y 90% en pacientes con EICH agudo o crónico.^{231,232} Afecta a diferentes estructuras oculares como las glándulas lagrimales, la conjuntiva, la córnea y las GM,^{64,233} y se producen tres procesos principales: disfunción de la glándula lagrimal principal, inflamación corneo-conjuntival y DGM,^{57,234} siendo la EOS la manifestación más frecuente del EICH ocular.⁶⁴ Como consecuencia, aparecen síntomas como irritación, fotofobia, enrojecimiento, picor, sensación de cuerpo extraño, quemazón y visión borrosa.²²⁴

Los tratamientos prescritos previos al trasplante también pueden afectar a diferentes estructuras de la SO. Por ejemplo, el epitelio corneal es susceptible a la toxicidad de la quimioterapia,²³⁵ la radioterapia aplicada en la órbita está relacionada con la sequedad ocular debido al daño que se produce en la glándula lagrimal principal,^{236,237} y el metotrexato (utilizado para quimioterapia) produce toxicidad en las mucosas que afectan a las GM.²³⁸ Todos estos efectos secundarios al régimen de acondicionamiento podrían poner al paciente en una situación previa al trasplante que le haga más proclive a padecer EICH ocular.⁶⁴

Aunque la afectación de la glándula lagrimal principal y la inflamación corneo-conjuntival han sido ampliamente estudiadas, se conoce menos la implicación de las GM en el EICH ocular.⁸³ La mayoría de los autores coinciden en que hay un mayor grado de pérdida de GM en pacientes con EICH ocular. Sin embargo, algunos estudios afirman que esta pérdida se produce incluso antes del trasplante, por lo que podría estar relacionada con otros tratamientos anteriores como la quimioterapia, la radioterapia o la terapia inmunosupresora.^{57,58} De hecho, Engel *et al.*⁵⁷ encontraron un mayor grado de pérdida de GM en pacientes con EICH ocular que en sujetos sanos. Sin embargo, después compararon un grupo de pacientes sin EICH ocular con los sujetos sanos, y no encontraron diferencias en el grado de pérdida de GM, por lo que sugieren que la DGM puede ser un factor de riesgo para desarrollar EICH ocular. Estos resultados contrastan con los de Bernabei *et al.*,⁵⁹ que no encontraron diferencias en el grado de pérdida de GM entre los pacientes trasplantados que desarrollaron EICH ocular y los que no lo desarrollaron, aunque en ambos grupos la pérdida de GM aumentó tras el trasplante. Otros autores han comparado el estado de las GM en pacientes con EICH ocular con otros tipos de enfermedades de la SO, como la DGM o el síndrome de Sjögren y afirman que la pérdida de GM es mayor y más rápida en los pacientes con EICH ocular.^{60,61} Además, Que *et al.*,^{60,61} encontraron una relación directa entre el área de pérdida de GM y la severidad del EICH ocular.

Estos resultados contradictorios se deben principalmente a la falta de estudios sobre GM y EICH ocular, y al reducido tamaño muestral en ellos, en parte debido a la tasa de supervivencia de la enfermedad. Con el fin de entender mejor el papel de las GM en el EICH ocular, es necesario

realizar estudios antes y después del trasplante con un tamaño muestral mayor.

1.6. Tratamiento de la disfunción de glándulas de Meibomio

El tratamiento más común para la DGM es la higiene palpebral. Consiste en la aplicación de calor en los párpados y en la realización de masajes con los dedos o instrumentos de silicona en el borde palpebral con el fin de mejorar la secreción de las GM.^{66,67} Basándose en el mismo principio, en los últimos años se han desarrollado diferentes dispositivos que aplican calor, humedad o masaje. Otros tratamientos se basan en la limpieza de los conductos para mejorar también la secreción del meibum, o en la aplicación de luz pulsada.⁷¹ Además, es posible incorporar terapia farmacológica al tratamiento para la DGM.⁶⁵

El informe de la TFOS recomienda seguir diferentes estrategias adecuadas a cada fase de la DGM.⁶⁵ En la primera fase, cuando la expresión y calidad de la secreción están mínimamente alteradas, pero no hay síntomas ni tinción ocular, se recomienda empezar con la higiene palpebral. En la segunda fase, cuando hay una alteración media y los síntomas y la tinción corneal son mínimos, recomiendan mejorar la humedad del ambiente y aumentar el consumo de ácidos grasos omega 3 en la dieta. Además, se deben realizar los tres pasos de la higiene palpebral y utilizar lubricantes oculares. En esta fase se puede iniciar el tratamiento con azitromicina tópica y considerar el uso de tetraciclinas. En la fase tres, cuando la alteración de la secreción, los síntomas y la tinción corneal son moderados, además de todo lo anterior se recomienda el uso de tetraciclinas, lubricantes de aplicación nocturna, y considerar la terapia antiinflamatoria. Por último, en la cuarta fase, cuando la alteración de la secreción y los síntomas son severos, y la

tinción corneal también, especialmente en la zona central, además de todo lo anterior, se recomienda iniciar terapia antiinflamatoria.⁶⁵

1.6.1. Higiene palpebral tradicional

La higiene palpebral consiste en la realización de tres pasos fundamentales: aplicación de calor húmedo en los párpados con los ojos cerrados, realización de masajes manuales en los párpados y, por último, limpieza del borde palpebral.⁶⁵

En la DGM obstructiva, los lípidos comienzan a fundirse a una temperatura de 35°C frente a los 32°C en condiciones normales.²³⁹ El objetivo de la higiene palpebral es mejorar la fusión de los lípidos y, con ello, mejorar la secreción.⁶⁵ El método más común de aplicar calor húmedo es mediante algodones o compresas sumergidas en agua caliente. El protocolo recomendado es mantener las compresas a 45°C durante al menos 4 minutos en contacto con los párpados, reemplazándolas cada dos minutos para mantener la temperatura.⁷⁰ Después de la aplicación de calor, el siguiente paso consiste en masajear suavemente los párpados, apretando levemente contra el globo ocular. El objetivo es acabar con la obstrucción de la GM y que recupere su función normal.⁶⁵ Finalmente, es necesario limpiar el borde palpebral para retirar las bacterias que hayan podido ser secretadas junto con el meibum.⁷¹ Este tratamiento mejora signos y síntomas oculares tras dos semanas.²⁴⁰

Aunque la higiene palpebral tradicional mejora los signos y síntomas asociados a la DGM, es un tratamiento que requiere tiempo, impactando directamente en el compromiso del paciente para realizarlo ya que el cumplimiento suele disminuir a partir de los 2 meses⁶⁸ y, por tanto, en la efectividad del tratamiento.^{69,70} Además, la falta de consenso sobre la

frecuencia con la que debe realizarse también hace que baje su efectividad.⁶⁵ Con el fin de solucionar algunos de estos problemas, en los últimos años se han desarrollado otros tratamientos para la DGM.

1.6.2. Otros tratamientos

1.6.2.1. *Basados en la higiene palpebral tradicional*

Las primeras alternativas a la higiene palpebral tradicional surgieron con el objetivo de estandarizar y controlar la temperatura y la presión ejercida sobre los párpados. Con respecto a la temperatura, es posible encontrar en el mercado diferentes máscaras que se calientan en el microondas y/o horno y mantienen el calor durante más tiempo, comparando con las compresas o el algodón.^{241–243} Un ejemplo es la Blepha Eyebag® (Théa Laboratories, Clermont-Ferrand, Francia), que alcanza una temperatura de 37,6°C (Figura 1.15). Se ha demostrado que sus efectos en el tratamiento para la DGM se mantienen durante 6 meses con dos aplicaciones diarias.^{33,243} Otra máscara similar es la EyeBag® Instant (The Eyebag Company, Halihax, Reino Unido), que se activa por aire (Figura 1.16).²²³ Otros ejemplos de máscaras que aplican calor son la Moist Heat Mask (OPTASE™, Nueva York, Nueva York, Estados Unidos) o The Eye Doctor Essential (The Body Doctor, Denby Dale, Reino Unido).



Figura 1.15. Blepha Eyebag®. Imagen obtenida con permiso de <https://www.opticalrooms.ie/product/blepha-eyebag/>



Figura 1.16. EyeBag® Instant. Imagen obtenida con permiso de <https://kallmarksogonapotek.se/produkt/eyebag-instant>

El eyeXpress™ Eye Hydration System (Holbar Medical Products, Tyler, Texas, Estados Unidos) consiste en unas gafas que proporcionan calor de manera ajustable.²⁴⁴ Otro dispositivo de calor ajustable es el TearCare® System (Sight Sciences, Menlo Park, California, Estados Unidos), cuya temperatura varía entre 41°C y 45°C (Figura 1.17). Además, favorece la secreción gracias a que permite el parpadeo durante su aplicación y se puede realizar un masaje posterior gracias a su dispositivo EXPRESS™. Badawi^{245,246} comparó los productos TearCare® System y Blepha Eyebag ® y encontró una mejora mayor en signos y síntomas con el TearCare® System.



Figura 1.17. TearCare® System. Imagen obtenida con permiso de TearCare® System

Otro dispositivo que aplica calor es el MiBo Thermoflo® (Mibo Medical Group, Dallas, Texas, Estados Unidos), que consiste en una pieza de metal que se coloca en los párpados (Figura 1.18).²⁴⁷ Finalmente, el EyeGiene® Insta-Warmth System™ (EyeGiene®, Danville, Virginia, Estados Unidos) produce calor gracias a una reacción química en su interior. Wang *et al.*²⁴⁸ compararon este dispositivo con el EyeBag® Instant y observaron que mantenía el calor durante menos tiempo, por lo que el EyeBag® Instant estaría más indicado para el tratamiento de la DGM.



Figura 1.18. MiBo Thermoflo®. Imagen obtenida con permiso de <https://www.dryeyecentersa.com/mibo-thermoflo-page>

Por otro lado, existen dispositivos que además de calor, aportan humedad. La máscara Bruder Moist Heat Eye Compress (Bruder Healthcare, Alpharetta, Georgia, Estados Unidos) es una máscara reutilizable que absorbe las moléculas de agua del aire y las aplica sobre el párpado en forma de calor húmedo (Figura 1.19). La Eye-essential® Mask (Bausch & Lomb, Rochester, Nueva York, Estados Unidos) produce calor cuando las perlas de su interior absorben y mantienen el calor adquirido en el microondas para después aplicarlo al párpado (Figura 1.20).²⁴¹



Figura 1.19. Bruder Mask. Imagen obtenida con permiso de <https://bruder.com/eye-care/dry-eye/bruder-mask/>



Figura 1.20. Eye-essential® Mask. Imagen obtenida con permiso de <https://www.opticalrooms.ie/product/therapearl/>

El Blephasteam® (Théa Laboratories, Clermont-Ferrand, Francia) consiste en unas gafas que producen humedad y calor a los párpados en forma de vapor de agua. Esto ayuda a la secreción del meibum ya que permite el parpadeo durante la aplicación (Figura 1.21).^{242,249} Un estudio reciente ha demostrado su mejora en signos y síntomas tras 21 días de tratamiento.²⁵⁰ Para realizar el masaje, se ha desarrollado otro dispositivo, el Eyepeace (Eyepeace, Londres, Reino Unido), fabricado en silicona, para masajear los párpados (Figura 1.22).²⁵¹



Figura 1.21. Blephasteam® y Blephasteam II®. Imágenes obtenidas con permiso de <https://www.opticalrooms.ie/product/blephasteam/> y de Théa Laboratories <https://www.theapharma.ie/product/blephasteam-ii/>



Figura 1.22. Eyepeace. Imagen obtenida de <https://blephacura.de/blephacura-produkte/eyepeace-lidmassage-hilfe/>, con permiso de Cathedral Eye Clinic, Belfast, Irlanda del Norte, Reino Unido.

Finalmente, se ha desarrollado un dispositivo más avanzado que aplica calor y masaje, introduciendo el concepto de ejercer una presión controlada durante el masaje, que es el dispositivo LipiFlow® (Johnson & Johnson Vision, Santa Ana, California, Estados Unidos), basado en pulsación térmica.⁷⁴

1.6.2.1.1. LipiFlow®

El dispositivo LipiFlow® aplica calor (42,5°C) y presión en la parte interna del párpado. El dispositivo consiste en un calentador de párpados y una copa ocular que aplica la presión gracias a una cámara de aire hinchable, llamado 'Activador' (Figuras 1.23 y 1.24). El tratamiento dura 12 minutos y se aplica en ambos ojos a la vez (Figura 1. 25).⁷²



Figura 1.23. Activador del LipiFlow®. Se observa el calentador, la copa ocular y el sistema hinchable. Imagen adaptada de Korb, D. R. & Blackie, C. A. *Case Report. A Successful LipiFlow Treatment of a Single Case of Meibomian Gland Dysfunction and Dropout.* Eye & Contact Lens. 2010;39 (3), 1–3. Con el permiso de Eye & Contact Lens. Número de licencia: 5250230086928.

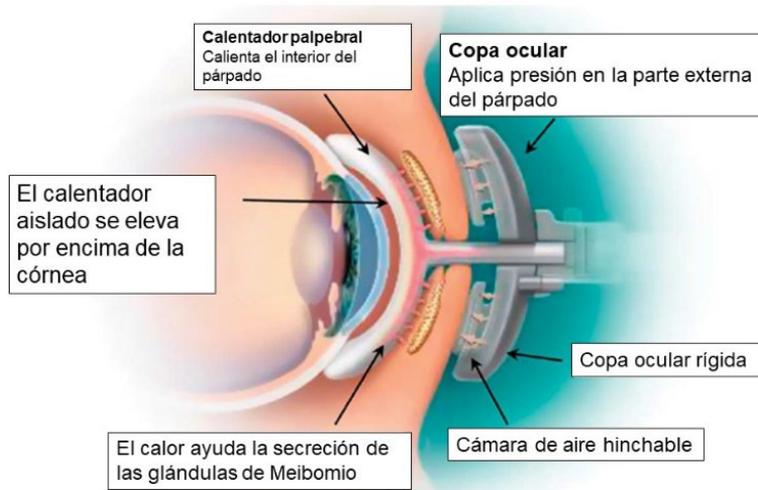


Figura 1.24. Posición del activador del LipiFlow® dentro del párpado. La cúpula ocular protege la córnea mientras el calentador aplica calor a la parte interna del párpado y el sistema hinchable realiza el masaje. Imagen adaptada de Korb, D. R. & Blackie, C. A. *Case Report. A Successful LipiFlow Treatment of a Single Case of Meibomian Gland Dysfunction and Dropout.* Eye & Contact Lens. 2010;39 (3), 1–3. Con el permiso de Eye & Contact Lens. Número de licencia: 5250230086928.



Figura 1.25. Aplicación del tratamiento LipiFlow® a una paciente.
Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Su eficacia ha sido probada en un estudio retrospectivo y los resultados mostraron una mejora en síntomas oculares y en la secreción de GM, un aumento en el espesor de capa lipídica, disminución del parpadeo parcial, y aumento del tiempo del TFBUT a las 4 y a las 12 semanas post tratamiento.²⁵² Con respecto a su duración, la secreción, el TFBUT y los síntomas mejoran a los 9 y 12 meses,^{74,253} y tras 3 años, se mantiene la mejora de la secreción y los síntomas.²⁵⁴ Finis *et al.*²⁵⁵ observaron una mejora en el espesor de capa lipídica y la hiperemia conjuntival bulbar. También se ha demostrado su eficacia en pacientes con síndrome de Sjögren,²⁵⁶ enfermedad de la SO tras cirugía refractiva,²⁵⁷ y con intolerancia a las LC.²⁵⁸

Comparando su eficacia con la higiene palpebral tradicional, se han observado mejoras tanto en síntomas,^{75,259–261} como en secreción de las GM y el TFBUT.^{257,260} También se ha observado una reducción en la evaporación después de 4 y 12 semanas comparando con máscaras de calor como EyeGiene® y Blephasteam®.²⁶² Sin embargo, Tauber *et al.*²⁶³ no encontraron diferencias entre LipiFlow® y el tratamiento con luz

pulsada. Con respecto a terapia farmacológica, Hagen *et al.*²⁶⁴ observaron una mejora mayor con una sesión de LipiFlow® frente a 3 meses de tratamiento con doxiciclina.

1.6.2.2. *Basados en otras técnicas: luz pulsada*

Otro tratamiento utilizado para la DGM son los dispositivos basados en la luz pulsada. Consiste en aplicar luz de entre 500 y 1200 nm directamente sobre las mejillas y nariz, cerca de los párpados inferiores.²⁶⁵ El resultado es la mejora de la secreción del meibum. Aunque no se conoce con exactitud el mecanismo de acción, se cree que reduce las bacterias del borde palpebral que alteran la secreción y obstruyen los conductos.⁶⁵ Sin embargo, otras teorías apuntan a que la luz pulsada aumenta la temperatura facial y absorbe la hemoglobina de los vasos sanguíneos, reduciendo así la inflamación debida a la DGM.²⁶⁶

Existen dos dispositivos de luz pulsada en el mercado. En primer lugar, está el E > Eye system (E-SWIM, Houdan, Francia), también llamado ‘luz pulsada de intensidad regulada’ (IRPL por sus siglas en inglés). Se aplica en 3 o 4 sesiones con una separación de 12, 45 y 75 días con respecto a la primera aplicación.^{267–269} En segundo lugar, está el Lumenis M22 System (Lumenis, Yokneam, Israel),²⁷⁰ también llamado ‘tecnología de impulso óptima’ (OPT™ por sus siglas en inglés). En este caso, se realizan 3 sesiones separadas 3 – 4 semanas. Wu *et al.*²⁶⁹ observaron una mejoría en la secreción de las GM mayor con el Lumenis M22. Otro dispositivo a tener en cuenta es el iLux® (Alcon, Fort Worth, Texas, Estados Unidos), que además de aplicar luz pulsada, realiza un masaje palpebral (Figura 1.26).²⁷¹ La eficacia de este dispositivo ha sido comparada con el LipiFlow® sin encontrar diferencias significativas.²⁶³



Figura 1.26. Ilux. Imagen obtenida con permiso de <https://www.bheyguy.com/contents/treatment/ilux>

Con respecto a su eficacia, la mayoría de los estudios coinciden en una mejora en signos y síntomas tras el tratamiento. Yin *et al.*²⁷² afirman que los pacientes tratados con luz pulsada mejoran más que con higiene palpebral. Piyacomn *et al.*²⁶⁸ observaron una mejora más rápida en aquellos pacientes que combinaban ambos tratamientos que en aquellos que sólo realizaban higiene palpebral. Resultados similares obtuvieron Arita *et al.*,²⁷³ combinando la luz pulsada con expresión de GM. A pesar de los buenos resultados, no existe un protocolo estandarizado para este tratamiento, ya que el número de sesiones varía entre 3 y 8, y el periodo entre ellas también varía entre 15 y 30 días.⁷¹

1.6.2.3. *Basados en otras técnicas: sondaje intraductal de las GM*

El sondaje intraductal de las GM es un tratamiento que consiste en abrir mecánicamente mediante cánulas los conductos y los orificios de las GM (Figura 1.27).²⁷⁴ Como consecuencia, el meibum sale inmediatamente, disminuyendo la presión en el borde palpebral y mejorando los síntomas oculares de la DGM.²⁷⁵ Esta técnica está

especialmente indicada para sujetos con fibrosis en los conductos de las GM.²⁷⁶

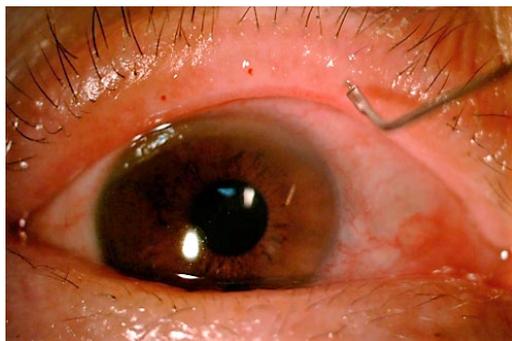


Figura 1.27. Sondaje intraductal de las glándulas de Meibomio. La cánula gris se introduce en el orificio de una glándula del párpado superior. Se observan también pequeños puntos de sangrado. Imagen obtenida con permiso de Ma X, Lu Y. *Efficacy of Intraductal Meibomian Gland Probing on Tear*

Function in Patients With Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. Cornea. 2016;35(6):725-30. Número de licencia: 5494890302854.

La ventaja de esta técnica es que, con una sola sesión, un 90% de los sujetos con DGM notan una mejoría en los síntomas oculares de manera inmediata o una semana después del tratamiento y el 69,2% afirma que esa mejoría se mantiene a los 6 meses.²⁷⁴ Con respecto a los signos clínicos, se ha comprobado que tras el tratamiento se reduce el número de telangectasias del borde palpebral y la hiperemia conjuntival.^{276,277} Para que la disminución de los síntomas oculares se mantenga durante al menos 3 meses, es necesario realizar entre 3 y 4 sesiones ya que, de media, los síntomas oculares reaparecen a las 38 semanas..^{277,278} Esta técnica también tiene alguna desventaja ya que es necesario anestésiar la zona del borde palpebral, puede ser molesta para el paciente, el párpado puede sangrar y requiere tiempo.²⁷⁵

1.6.3. Tratamiento farmacológico

A nivel farmacológico, los lubricantes oculares, antibióticos tópicos y derivados de las tetraciclinas, ciclosporina, y esteroides son los medicamentos más utilizados para el tratamiento de la DGM.⁶⁵

Como se ha mencionado anteriormente, en la DGM de severidad media se recomienda el uso de lubricantes oculares. Los lubricantes oculares, comúnmente llamados 'lágrimas artificiales', son prescritos principalmente en pacientes con EOS mixto, es decir, con componente acuodeficiente y componente evaporativo.⁶⁵ El aumento de la lubricación ocular disminuye la inflamación ya que reduce la hiperosmolaridad y la fricción durante el parpadeo, además de mejorar la distribución de la capa lipídica de la PL y diluir las citoquinas inflamatorias en la lágrima.⁶⁵

Los antibióticos tópicos se prescriben con el fin de disminuir los patógenos asociados a la DGM.⁶⁵ La Azitromicina es el antibiótico más prescrito en los Estados Unidos debido a sus propiedades antiinflamatorias y a su buena tolerancia.^{66,279} Además, se ha demostrado que inhibe la producción de mediadores inflamatorios actuando directamente en las células del epitelio corneal,²⁸⁰ y restaura la composición del meibum hasta valores normales.²⁸¹ La Doxiciclina es otro antibiótico, derivado de las tetraciclinas, común en el tratamiento de la DGM en contexto de rosácea, por su acción antiinflamatoria y sus propiedades reguladoras de lípidos.⁶⁵

La ciclosporina A es un agente inmunosupresor que actúa sobre los linfocitos T,²⁸² tradicionalmente utilizado en el tratamiento de la EOS. Algunos estudios han demostrado una mejoría en síntomas y signos asociados a la DGM, como la obstrucción de los orificios, la secreción de las GM, o la inflamación del borde palpebral.²⁸³⁻²⁸⁵

Finalmente, el uso de los esteroides se recomienda durante periodos cortos de tiempo en episodios agudos de inflamación o para el tratamiento de complicaciones derivadas de la DGM, ya que su uso prolongado puede causar cataratas y elevar la presión intraocular.⁶⁵ El tratamiento con esteroides durante un periodo breve de tiempo mejora la calidad de la secreción de las GM,²⁸⁶ así como el enrojecimiento del borde palpebral.²⁸⁷

1.7. Efecto de las condiciones ambientales en la disfunción de glándulas de Meibomio y su tratamiento

El efecto de las condiciones ambientales en la SO afecta tanto a individuos sanos como a pacientes con EOS. Cuando la humedad relativa es baja (5%), los valores de evaporación lagrimal, espesor de capa lipídica, síntomas oculares, estabilidad y producción lagrimal en individuos sanos son similares a los valores en individuos con EOS en condiciones normales.²⁸⁸ Los signos y síntomas asociados a la EOS pueden variar dependiendo de las condiciones ambientales.⁷⁷ Factores como la temperatura, el flujo de aire, o la humedad relativa pueden mejorar o empeorar los síntomas del ojo seco.^{76,78,79} Por ejemplo, la exposición a un ambiente adverso empeora los síntomas y signos asociados a la enfermedad. Estas variaciones complican tanto el diagnóstico como la evaluación de los tratamientos para la EOS. Teniendo en cuenta que la DGM es la principal causa de la EOS de subtipo evaporativo, es importante controlar las condiciones ambientales a la hora de realizar ensayos clínicos en esta patología ocular.⁷⁷ Para llevar a cabo este tipo de ensayos, se han desarrollado las cámaras de ambiente controlado.

1.7.1. Cámara de ambiente controlado

Una cámara de ambiente controlado (Figura 1.28) es un espacio cerrado donde se pueden modificar factores como la temperatura, la humedad, el flujo de aire, la presión o la cantidad de luz de la sala, de manera que se puede controlar o minimizar el efecto de estos factores ambientales y sus efectos en la SO.⁷⁷

Uno de los grandes problemas que existen en el diagnóstico y en la evaluación de los tratamientos en la EOS es la falta de correlación entre signos y síntomas, en parte debido a la variabilidad de los signos encontrados en la exploración de la superficie ocular. Como se ha mencionado anteriormente, la superficie ocular se ve afectada por las condiciones ambientales, lo que podría estar provocando en parte esa variabilidad en los signos clínicos.²⁸⁹ Si los factores mencionados anteriormente se mantienen estables durante la realización de las pruebas diagnósticas los resultados obtenidos serán más precisos y repetibles.¹⁷⁰ El Grupo de Superficie Ocular del IOBA ha realizado varios estudios en esta línea y los resultados apuntan a que existe reducción en la variabilidad de los valores observados en las pruebas clínicas tanto de signos como de síntomas cuando se controlan las condiciones ambientales.²⁹⁰⁻²⁹² Además, las cámaras de ambiente controlado permiten evaluar si un tratamiento protege la SO del daño provocado por condiciones ambientales adversas.⁷⁷

Este modelo de ensayo clínico se ha utilizado para evaluar la seguridad y eficacia de terapias farmacológicas,^{293,294} nuevas aplicaciones de fármacos ya existentes en el mercado,²⁹⁵ comparar diferentes tratamientos,²⁹⁶ e identificar biomarcadores.^{76,80,297}

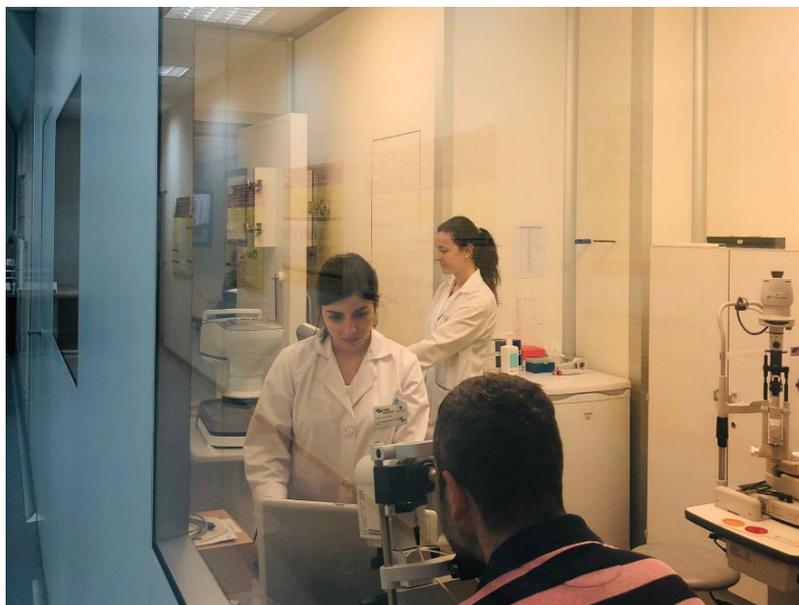
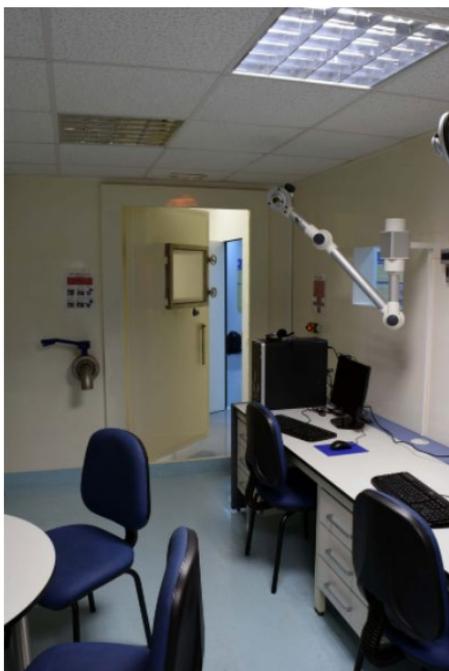


Figura 1.28. Laboratorio de ambiente controlado CELab. VisionR&D, IOBA, Universidad de Valladolid. En la parte superior se observa la sala de exposición y en la parte inferior, la sala de exploración. Fuente: IOBA.

CAPÍTULO 2: JUSTIFICACIÓN

La EOS es una enfermedad multifactorial de la SO y su prevalencia aumenta con la edad. Existen diferentes tipos y causas, entre las que destaca la DGM. El diagnóstico de la DGM se basa en los síntomas sufridos por el paciente y en la evaluación de la función de las GM (graduando la calidad y la expresión de su secreción) y su morfología (con imágenes de las glándulas mediante meibografía de no contacto).

La meibografía es el único método que permite observar la morfología de las GM en la clínica, sin embargo, no existe un consenso a la hora de evaluar las imágenes obtenidas. Algunos autores han desarrollado sus propias escalas de graduación basadas en imágenes subjetivas, mientras que otros han implementado métodos de análisis de imágenes por ordenador automáticos o semi automáticos. Ante la necesidad de consenso, en esta tesis doctoral se propone el desarrollo de nuevos métodos de análisis objetivos para evaluar la morfología de las GM, y relacionarla con la función. Aunque es cierto que hay descritos cambios en las GM asociados a la edad, la mayoría de los estudios hacen referencia al área de pérdida de GM, por lo que no existe una caracterización completa que incluya otros parámetros que aporten más información sobre los cambios que sufren las GM a lo largo de la vida y en qué momentos se producen esos cambios. Una vez obtenida una caracterización de los cambios morfológicos de las GM asociados a la edad en sujetos sanos, es posible comparar los cambios que se producen en diferentes condiciones, como la EOS o el trasplante de células hematopoyéticas. La caracterización de estos cambios en las GM podría ayudar a mejorar el diagnóstico de la DGM.

Además del diagnóstico, también es importante la evaluación del tratamiento para la DGM. Actualmente, las personas estamos continuamente expuestas a condiciones ambientales adversas, como baja humedad, alta temperatura, o la existencia de flujo de aire, especialmente en espacios interiores. Está demostrado que cuando la humedad relativa disminuye, la evaporación de la PL aumenta, tanto en pacientes con EOS como en individuos sanos.⁷⁶ El Grupo de Superficie Ocular del Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) ha demostrado los efectos negativos de un ambiente adverso (gracias a la cámara de ambiente controlado que forma parte del '*Controlled Environment Laboratory*' CELab, Vision R&D, Valladolid, España) en variables como la estabilidad lagrimal, los síntomas de sequedad ocular y la tinción corneal, tanto en sujetos sanos como en pacientes con EOS. Por este motivo, es importante evaluar el efecto del tratamiento para la DGM controlando las condiciones ambientales.

CAPÍTULO 3: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

La morfología de las glándulas de Meibomio cambia con la edad y en diferentes condiciones oculares, y el análisis de estos cambios puede ser útil para la evaluación del diagnóstico y tratamiento de dichas condiciones.

3.2. Objetivos

Objetivo 1: Caracterizar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sanos, definiendo intervalos de referencia para cada una de las características observables en la meibografía.

Objetivo 2: Evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco.

Objetivo 3: Evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas.

Objetivo 4: Evaluar el efecto del tratamiento para la disfunción de glándulas de Meibomio en condiciones ambientales controladas.

CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO

4.1 Intervalos de referencia para la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos sanos

4.1.1. Introducción

El buen funcionamiento de las GM depende en gran medida de su morfología, de manera que la existencia de alteraciones en dicha morfología es una de las causas de la DGM.¹⁴ Actualmente, la meibografía es la técnica más utilizada para evaluar la morfología de las GM.⁸¹ Sin embargo, existen diferentes métodos para evaluar las imágenes obtenidas,⁷⁵ siendo el método más utilizado valorar el grado de pérdida o disminución de GM mediante escalas subjetivas, como la escala *meiboscore* desarrollado por Arita *et al.*,²⁹ y la escala *meiboscale* desarrollada por Pult *et al.*³⁰ Posteriormente se han desarrollado métodos más objetivos, desde el uso del software *Image J* para cuantificar el porcentaje de pérdida de GM,^{31,33–36,40–43} hasta softwares automáticos o semi-automáticos.^{32,44–52,82} Gracias a estas herramientas se han cuantificado nuevas características de la morfología de las GM como la longitud,^{31–34} la anchura,^{32–35} o la tortuosidad.^{34,36,37,39,42,43,205} Se ha descrito anteriormente que la morfología de las GM cambia debido a factores externos como la edad²⁹ o el uso de LC,¹⁰¹ y a otras patologías oculares como la EOS,⁵⁵ la EICH ocular,^{55,83} la conjuntivitis alérgica, o la rosácea, entre otras.^{57,86} La caracterización de los cambios asociados a cada factor podría mejorar el diagnóstico de la DGM asociada a estas condiciones. Por este motivo, el objetivo de este estudio es caracterizar de manera objetiva la morfología de las GM en sujetos sanos, no usuarios

de LC, y definir unos intervalos de referencia (IR) para estas características morfológicas en función de la edad y el sexo.

4.1.2. Material y métodos

Se llevó a cabo un estudio prospectivo y observacional en el que se incluyeron sujetos sanos no usuarios de LC y sin enfermedades oculares. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Área de Salud de Valladolid Este y la Comisión de Investigación del IOBA (Apéndice 4.1, acceso desde el código QR), y se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Los participantes fueron reclutados en el IOBA, Universidad de Valladolid, donde firmaron el consentimiento informado (Apéndice 4.2, acceso desde el código QR) antes de participar en el estudio, tras haber sido explicado apropiadamente.



4.1.2.1. *Sujetos de estudio*

Se reclutaron personas voluntarias de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

- Sujetos menores de 18 años cuyos progenitores y/o tutores legales fueran capaces de entender y firmar el consentimiento informado.
- Sujetos mayores de 18 años capaces de entender y firmar el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Alteraciones y/o enfermedades oculares activas tales como: conjuntivitis infecciosa, alergia ocular, inflamación de cámara anterior, enfermedad de segmento anterior.

- Alteraciones y/o enfermedades oculares crónicas como: alteración del sistema de drenaje lagrimal, glaucoma, EOS y/o DGM. EOS definido como: OSDI ≥ 13 y al menos dos de los siguientes test alterados en ambos ojos: TFBUT ≤ 7 segundos,²⁹⁸ tinción corneal con fluoresceína ≥ 1 en escala Oxford, tinción conjuntival con verde de lisamina ≥ 1 en escala Oxford, y test de Schirmer ≤ 5 mm en 5 minutos. Se definió la presencia de disfunción de glándulas de Meibomio si la expresión y también la calidad de la secreción de las glándulas fue ≥ 2 en ambos ojos según las escalas mencionadas anteriormente (Bron y Shimazaki).⁸⁶

- Enfermedades autoinmunes que requieran tratamiento.
- Enfermedades sistémicas, neurológicas y/o dermatológicas con afectación ocular.

- Historia de uso de LC.
- Historia de cirugía ocular y/o palpebral.
- Uso de medicación tópica ocular en los últimos 3 meses.
- Uso de medicación sistémica que afecte a la producción lagrimal en los últimos 3 meses.

- Mujeres embarazadas o en lactancia.

4.1.2.2. Evaluación clínica

Se realizó un cuestionario de salud general y ocular, y posteriormente se realizó la exploración clínica en ambos ojos en el orden que se muestra a continuación. Los resultados se recogieron en el cuaderno de recogida de datos (Apéndice 4.3, acceso desde el código QR).

Cuestionario Ocular Surface Disease Index (OSDI)

Es el cuestionario más frecuentemente utilizado para valorar la severidad de los síntomas en alteraciones de la SO. Está formado por 12 preguntas sobre los síntomas del ojo seco y su efecto en la visión, así

como las limitaciones que estos producen y los factores ambientales relacionados con la EOS. Cada pregunta se valoró de 0 a 4, de menor a mayor frecuencia respectivamente, incluyendo la opción 'no procede' si fuera necesario. A continuación, se sumó el valor de todas las respuestas; ese resultado se multiplicó por 25 y se dividió entre el número de preguntas contestadas. De esta forma, se obtuvo una puntuación de 0 a 100, siendo 0 la mínima severidad y 100 la máxima. La definición de sujeto sintomático viene dada por una puntuación mayor o igual a 13.^{299,300}

Medida de la agudeza visual (AV)

Para la medida de la AV monocular se utilizó una pantalla ETDRS (Topcon CO LDT, Tokio, Japón), a una distancia de 4 metros con un contraste del 100%. El sujeto leyó de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo consecutivamente hasta la línea en la que cometió más de dos fallos. Si el sujeto cambiaba su respuesta antes de verbalizar el siguiente optotipo, el cambio debía aceptarse. En caso de haber dicho en voz alta el siguiente optotipo, el cambio no debía aceptarse. Se anotó la AV en nomenclatura LogMAR (*Logarithm of the minimum angle of resolution*) como la última línea completa que había leído, más las letras de la siguiente línea, incrementando 0,02 por letra.

Medida del espesor de la capa lipídica de la película lagrimal

Se utilizó el interferómetro Lipiview II (TearScience, Inc., Morrisville, Carolina del Norte, Estados Unidos). Se pidió al paciente que parpadeara de manera natural mientras se tomaba la medida. El interferómetro grababa un vídeo y analizaba automáticamente el espesor de la capa lipídica en nm (Figura 4.1).³⁰¹



Figura 4.1. Medida del espesor de capa lipídica. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Evaluación de la hiperemia conjuntival y el grado de papilas

Se valoró con la lámpara de hendidura (SL-8Z; Topcon Corporation, Tokio, Japón) utilizando luz blanca y 16 aumentos, evaluando la hiperemia en conjuntivas bulbar y tarsal y el grado de papilas en una escala de 0 a 4 (siendo 0 ausencia del hallazgo y 4 la máxima severidad del mismo), con la escala de Efron³⁰² (Figura 4.2).

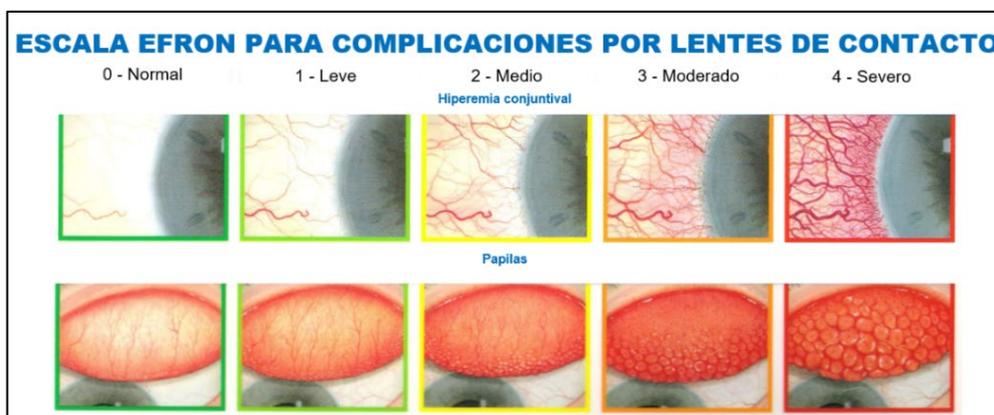


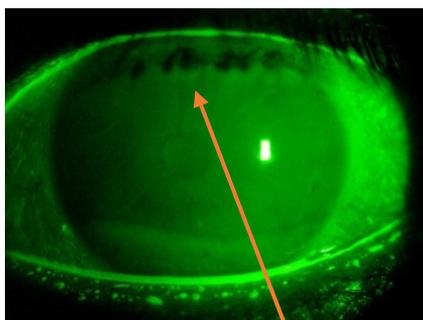
Figura 4.2. Escala Efron para la hiperemia conjuntival y el grado de papilas. Obtenida y adaptada con permiso de *Efron Grading Scales, Professional Services Department*, Hydron Ltd, Hawley Lane, Farnborough, Hampshire GU148EQ, Reino Unido.

Tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína (TFBUT)

Se utilizó fluoresceína sódica (I-DEW groen, Entod Research Cell UK Ltd. Tottenham Lane, Londres, Reino Unido) en tira oftálmica, previamente humedecida con suero salino y sacudida para eliminar el exceso de suero antes de aplicarla en la conjuntiva bulbar inferior. Se observó el patrón de la PL a través de la lámpara de hendidura con luz azul cobalto y a través del filtro amarillo Wratten no. 12 (Eastman Kodak, Rochester, Nueva York, Estados Unidos). Se pidió al paciente que parpadeara tres veces y, a continuación, que mantuviera los ojos abiertos. Se tomó como medida en segundos el tiempo transcurrido entre el último parpadeo y la aparición del primer punto negro o la pérdida de tinción con fluoresceína en la PL. Se realizaron tres medidas con cronómetro, siendo el valor final la media de las tres (Figura 4.3).⁷⁸

Evaluación de tinción corneal con fluoresceína

Se evaluó 2 minutos después de instilar fluoresceína sódica en la conjuntiva bulbar inferior. Se examinó la SO a 16 aumentos y luz azul cobalto de la lámpara de hendidura y a través de un filtro amarillo. Se dividió la córnea en 5 sectores (central, temporal, nasal, superior e inferior). La extensión de la tinción corneal (Figura 4.4) con fluoresceína se calificó en una escala de 0 (no tinción) a 4 (tinción severa) grados según la escala *Cornea and Contact Lens Research Unit (CCLRU)*³⁰³ para cada una de las zonas y se sumaron las 5 zonas para dar un valor global (máximo 20, Figura 4.5). También se valoró la tinción corneal de 0 a 5 con la escala Oxford (Figura 4.6).



Zona de ruptura



Zona de tinción

Figura 4.3. Medida del tiempo de ruptura lagrimal (TFBUT) con fluoresceína. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Figura 4.4. Medida de la tinción corneal con fluoresceína. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.



Figura 4.5. Escala *Cornea and Contact Lens Research Unit* para la tinción corneal. Adaptada con permiso de www.brienholdenvision.org

ESCALA OXFORD MODIFICADA PARA GRADUAR LA TINCIÓN CORNEAL Y CONJUNTIVAL

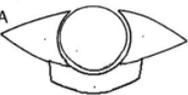
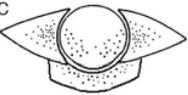
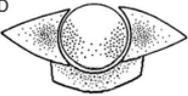
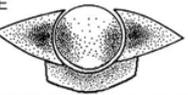
FIGURA	GRADO	CRITERIO	PUNTOS	LOG	DESCRIPCIÓN
A 	0	Igual o menor que A	1	0	Ausente
B 	I	Igual o menor que B, mayor que A	10	1.0	Mínimo
C 	II	Igual o menor que C, mayor que B	32	1.5	Medio
D 	III	Igual o menor que D, mayor que C	100	2.0	Moderado
E 	IV	Igual o menor que E, mayor que D	316	2.5	Marcado
>E	V	Mayor que E	>316	>2.5	Severo

Figura 4.6. Escala Oxford para la tinción corneal y conjuntival. Log = unidades logarítmicas. Imagen obtenida y adaptada de Bron *et al. Grading Of Corneal and Conjunctival Staining in the Context of Other Dry Eye Tests.* Cornea. 2003;22(7):640-50. Número de licencia: 5433510773451.

Evaluación de la línea de Marx con fluoresceína

Aplicando tinciones vitales como la fluoresceína en el margen palpebral, se observa una línea denominada ‘Línea de Marx’.³⁰⁴ En ojos sanos, se localiza en el lado conjuntival de los orificios de las glándulas de Meibomio, sin embargo, en ocasiones puede localizarse en la parte cutánea de dichos orificios. Este desplazamiento de la línea de Marx está relacionado con alteración en las glándulas de Meibomio.³⁰⁴ Se instiló fluoresceína sódica en tira oftálmica en la conjuntiva bulbar inferior. Se observó la línea teñida con la lámpara de hendidura a 16 aumentos, el

filtro azul cobalto y el filtro amarillo. El margen palpebral se dividió en tres zonas (temporal, central y nasal) y cada zona se evaluó de 0 a 3 según la posición de la línea de Marx (donde 0 = detrás de los orificios, 1 = en contacto con algún orificio, 2 = en línea con los orificios, 3 = delante de los orificios). Se evaluaron los dos párpados (superior e inferior) y la suma total de cada sección es la puntuación total de cada párpado (Figura 4.7).

304

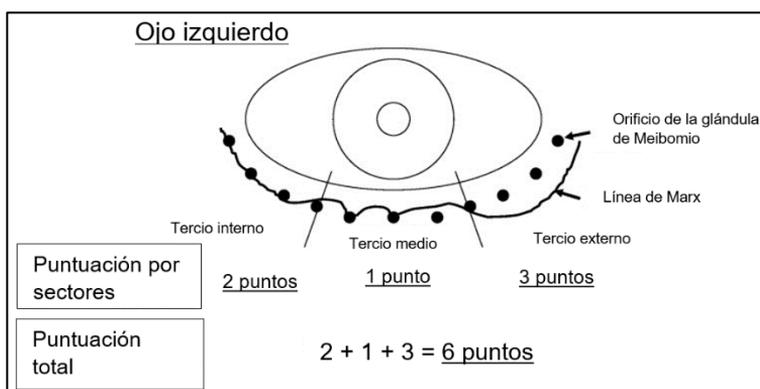
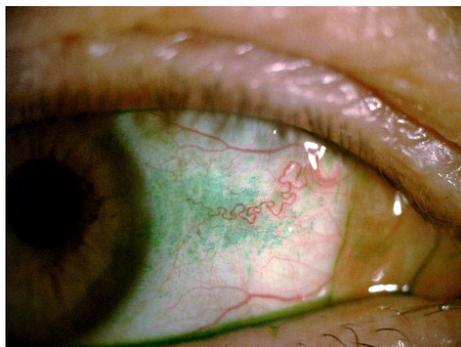


Figura 4.7. Escala Yamaguchi para la línea de Marx. Obtenida y adaptada de Yamaguchi *et al.* *Marx Line: Fluorescein Staining Line on the Inner Lid as Indicator of Meibomian Gland Function.* Am J Ophthalmol. 2006 Apr;141(4):669-75. Número de licencia: 5435300864004.

Evaluación de tinción conjuntival con verde de lisamina

Se instiló verde de lisamina (I-DEW green, Entod Research Cell UK Ltd. Tottenham Lane, Londres, Reino Unido) en tira oftálmica, previamente humedecida con suero salino, en la conjuntiva bulbar inferior. Tras varios parpadeos para permitir que la tinción se distribuyera por toda la SO, se evaluó la tinción conjuntival con lámpara de hendidura



a 16 aumentos, en nasal y temporal en ambos ojos (Figura 4.8) según la escala Oxford, de 0 (no tinción) a 5 (tinción severa).³⁰⁵

Figura 4.8. Tinción conjuntival con verde de lisamina. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Signos inflamatorios del párpado

Se evaluó en los párpados superior e inferior la presencia de signos inflamatorios, mediante lámpara de hendidura con luz blanca a aumentos medios (16 – 25), la presencia (1) o ausencia (0) de los siguientes criterios: irregularidad del borde palpebral, telangectasias, obstrucción de los orificios de las GM y desplazamiento de la línea de Marx, sumando los hallazgos y obteniendo una escala de 0 a 4.¹⁸⁴

Evaluación de la función de las GM

La función de las GM se evaluó según la calidad de la secreción y su expresión, con lámpara de hendidura y aumentos medios (16 – 25). Se aplicó una leve presión digital sobre los párpados (superior e inferior) de ambos ojos. La calidad se evaluó de 0 a 3, siendo 0 una expresión clara y transparente, 1 levemente blanquecina, 2 blanquecina, y 3 opaca y espesa.⁸⁶ La expresión se evaluó de 0 a 3 siendo 0 una expresión fácil, 1 con leve presión, 2 con presión moderada, y 3 no expresión incluso bajo gran presión.²⁵ Además, se contabilizó el número de glándulas obstruidas en cada párpado y se anotó el número de los orificios del borde libre del párpado. Se definió la presencia de disfunción de glándulas de Meibomio si la expresión y también la calidad de la

secreción de las glándulas fue ≥ 2 en ambos ojos según las escalas mencionadas anteriormente (Bron y Shimazaki).⁸⁶

Evaluación de la morfología de las GM

Se tomaron imágenes de meibografía del párpado superior (debido a la dificultad a la hora de tomar meibografías de calidad en el párpado inferior, y también a que en el párpado superior se observa mayor área, lo que ayuda a tomar medidas como la longitud y la tortuosidad) con el instrumento Easy Tear View+ (EASYTEAR s.r.l., Trento, Italia, Figura 4.9) acoplado en la lámpara de hendidura, bajo iluminación infrarroja a nivel de intensidad 2. Las imágenes se observaron con el microscopio digital MV500 USB-Mi View, conectado mediante USB a un ordenador portátil (modelo L835-SP3201RL, TOSHIBA, Minato, Tokio, Japón). Las imágenes se recogieron con el programa MiViewCap (versión 6.0 para Windows XP, Cosview Technologies Co. Ltd. ShenZhen GuangDong, China).

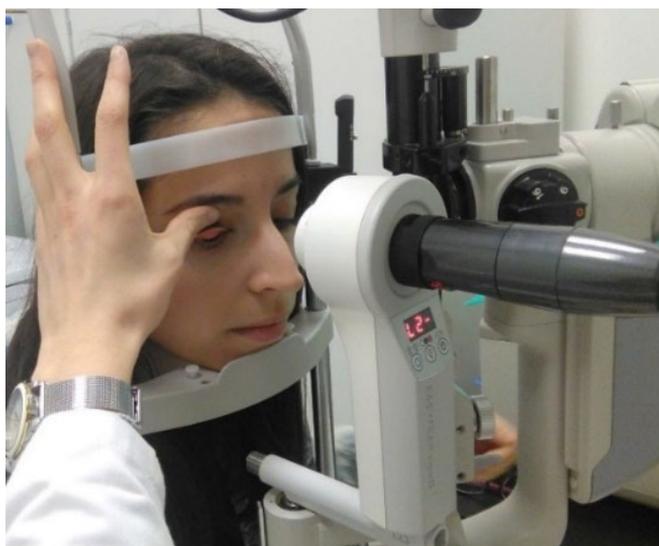


Figura 4.9. Meibografía de no contacto. Se observa el sistema de iluminación de luz infrarroja al que se acopla la cámara fotográfica (Easy Tear View+, EASYTEAR s.r.l., Trento, Italia), con el microscopio digital MV500 USB-Mi View, integrado en la lámpara de hendidura (modelo

SL-D7, TOPCON corporation, Tokio, Japón). Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Test de Schirmer I

El objetivo de esta prueba es cuantificar la producción lagrimal del paciente y descartar la presencia de sequedad ocular. Se colocaron tiras de papel (I-DEW tearstrips, Entod Research Cell UK Ltd. Tottenham Lane, Londres, Reino Unido) graduadas de 0 a 35 mm, en el canto temporal de ambos ojos, y se pidió al paciente que cerrara los ojos



durante 5 minutos. Pasado este periodo de tiempo, se pidió al sujeto que abriera los ojos y se retiraron las tiras de papel. Se anotó como medida válida la última división de la tira empapada por lágrima (Figura 4.10).

Figura 4.10. Test de Schirmer. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

Análisis objetivo de las imágenes de las GM

Las imágenes de meibografía fueron analizadas utilizando un software propio implementado en el lenguaje estadístico R,³⁰⁶ y desarrollado por la Dra. Itziar Fernández. El análisis completo de cada imagen consta de cuatro etapas, las tres primeras relacionadas con el procesamiento de la imagen y la última con la cuantificación de las características de interés en dichas imágenes (Figura 4.11).

- 1. Selección de la región de interés:** en primer lugar, se seleccionó la zona de la imagen que queríamos analizar, es decir, el área total del párpado. Esta zona es el área resultante de la intersección de dos elipses. Estas elipses se dibujan de forma automática tras seleccionar 5 puntos en el borde del párpado para cada una de ellas.

2. Pre-procesado de la imagen: en esta etapa se trata de optimizar la imagen para esqueletizar (obtener una imagen tipo *skeleton*) la imagen original. Para ello es necesario realizar diferentes operaciones:

- 2.1. Eliminar el ruido de fondo utilizando un filtro de mediana.
- 2.2. Mejorar el contraste global de la imagen: para ello se utiliza el procedimiento propuesto por Dai *et al.*,⁴⁵ que consta de cuatro pasos: estandarización, normalización, mejora del contraste global utilizando la ecualización de histograma adaptativa limitada por contraste y, por último, un ajuste del brillo de cada píxel.
- 2.3. Finalizar la imagen: para ello, las imágenes fueron convolucionadas con dos filtros gaussianos, para visibilizar los bordes de las GM, y se llevó a cabo un filtro adaptativo para separar las GM del fondo.
- 2.4. Depurar la imagen binaria: las imágenes binarizadas obtenidas en la etapa anterior pueden mostrar artefactos no deseados. Concretamente se detectan automáticamente tres tipos de regiones: (a) regiones excesivamente pequeñas que se eliminan; (b) regiones excesivamente grandes correspondientes a la unión de varias glándulas en una única región blanca, que son separadas; y (c) regiones blancas prácticamente horizontales que se corresponden con el borde del párpado y que son eliminadas. Además, pueden eliminarse las regiones blancas de los extremos nasal y temporal, donde la visibilidad de las GM es menor que en la zona central.

- 2.5. La imagen binaria depurada es esqueletizada, es decir es procesada para obtener una imagen tipo *skeleton*, donde las GM aparecen como líneas blancas.

3. Modelización de las GM:

- 3.1. En primer lugar, se utiliza el algoritmo watershed³⁰⁷ para segmentar la imagen esqueletizada en diferentes regiones. Cada una de estas regiones se corresponde con una GM diferente.
- 3.2. Cada GM es ajustada utilizando un modelo de regresión lineal a trozos, de forma que cada GM se divide en segmentos en función de sus cambios de dirección (Figura 4.12).

4. **Cuantificación de las características de interés:** la etapa final consiste en obtener, a partir de las imágenes ya procesadas, las características de interés. Concretamente la información obtenida de cada imagen es: longitud de las GM, distancia euclídea entre los extremos de la GM (Figura 4.12), anchura media (medida en la parte central) de la GM (Figura 4.13), número de GM (Figura 4.14), número de segmentos por GM (Figura 4.15), tortuosidad, desviación de la vertical (Figura 4.16), área global del párpado ocupada por GM y área considerando solo la mitad de la imagen superior del párpado (Figura 4.17). Este parámetro se incluyó para evaluar el acortamiento de las GM. Los valores de área se obtienen como la relación entre el número de píxeles de las GM con respecto al número de píxeles del párpado, y se expresa como un índice 0 – 1.

La tortuosidad se mide a partir del ángulo entre dos segmentos adyacentes. Sea α_k el ángulo entre los segmentos k y $k + 1$, definido como,

$$\alpha_k = \arctg\left(\frac{|m_k - m_{k+1}|}{1 - m_k \cdot m_{k+1}}\right) \text{ con } k = 1, \dots, K$$

donde m_k representa la pendiente del segmento k -ésimo y K el número total de segmentos en una GM. La tortuosidad de la glándula g -ésima se define como,

$$T_g = \frac{K - 1}{K} \frac{\sum_{k=1}^{K-1} \alpha_k L^{(k)}}{\sum_{k=1}^{K-1} L^{(k)}}$$

con $L^{(k)}$ la longitud del segmento k -ésimo.

La tortuosidad se cuantifica en cada segmento de manera individual, y esas cantidades se suman en un índice por GM que tiene en cuenta tanto el número de segmentos como los cambios de dirección de cada uno de ellos, entre 0 y 1, donde 0 = no tortuosidad y 1 = máxima tortuosidad.

La desviación de la vertical se define como un índice entre 0 y 1 que indica el grado de inclinación de la GM con respecto a una línea vertical de referencia, donde 0 = no desviación y 1 = máxima desviación, es decir, una inclinación de 90°.

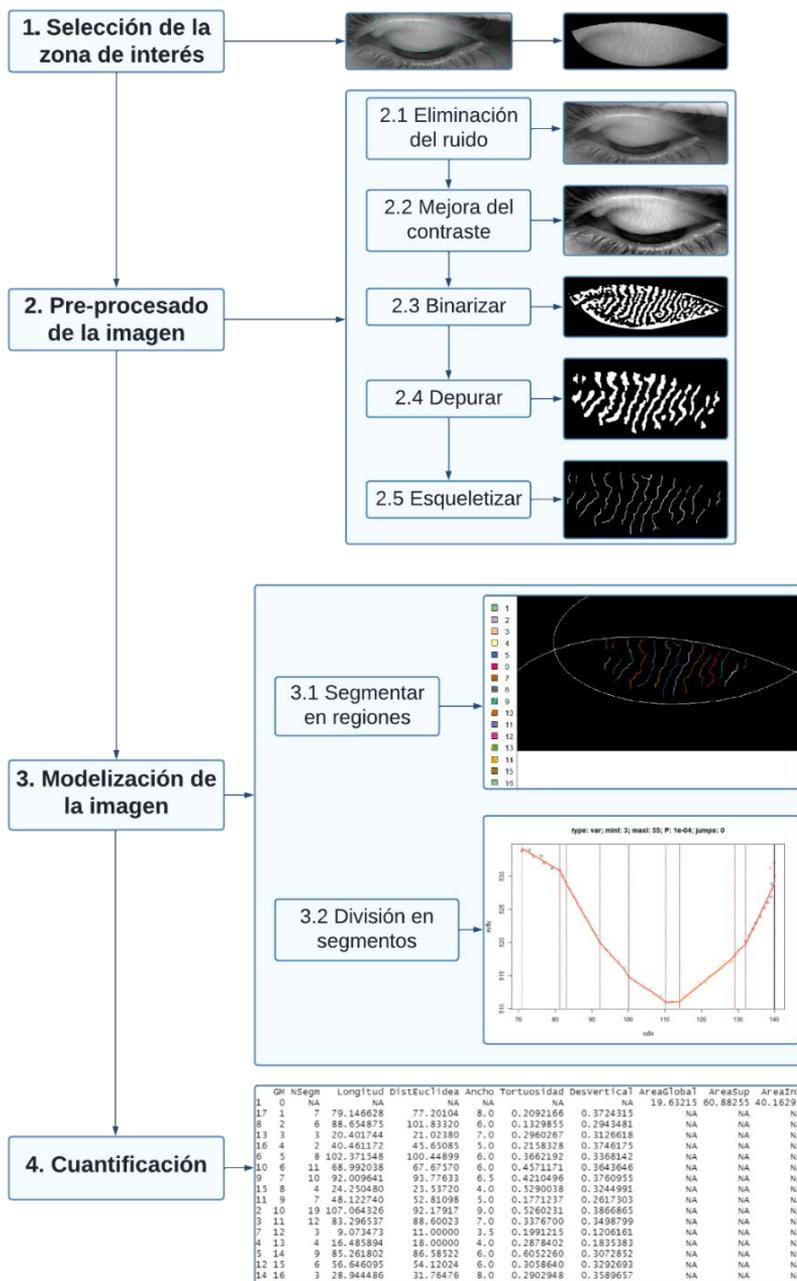


Figura 4.11. Esquema del análisis de las imágenes de meibografía con R. A partir de la imagen original se selecciona la zona de interés, se pre-procesa la imagen para obtener la imagen binaria y la imagen *skeleton*. Después se modeliza la imagen y se cuantifican los parámetros. GM = glándulas de Meibomio, NSegn = número de segmentos, Dist = distancia, Desv = desviación, Sup = superior, Inf = inferior.

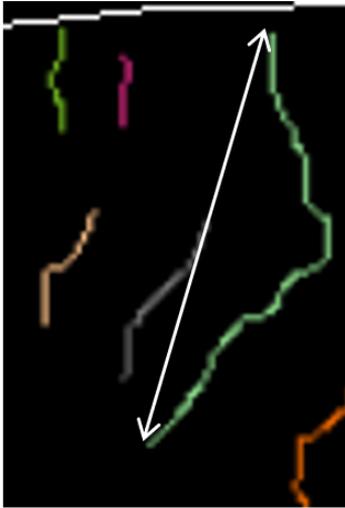


Figura 4.12. Distancia euclídea entre los extremos de una glándula de Meibomio (flecha blanca).

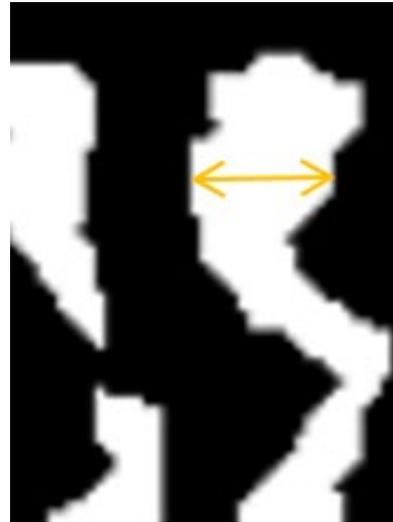
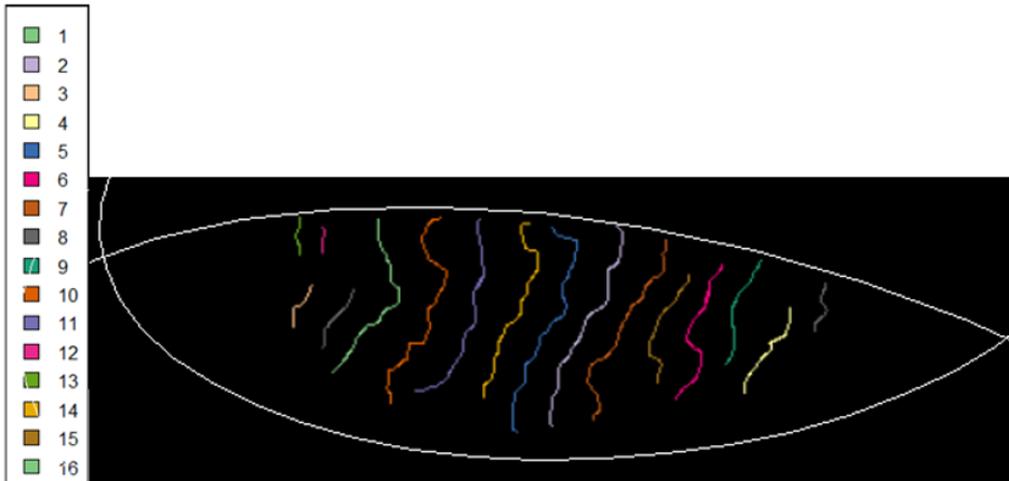


Figura 4.13. Anchura de una glándula de Meibomio (flecha amarilla).



Número de GM (m) = 16

Figura 4.14. Número de glándulas de Meibomio (GM) (m). En la imagen de ejemplo, $m = 16$.

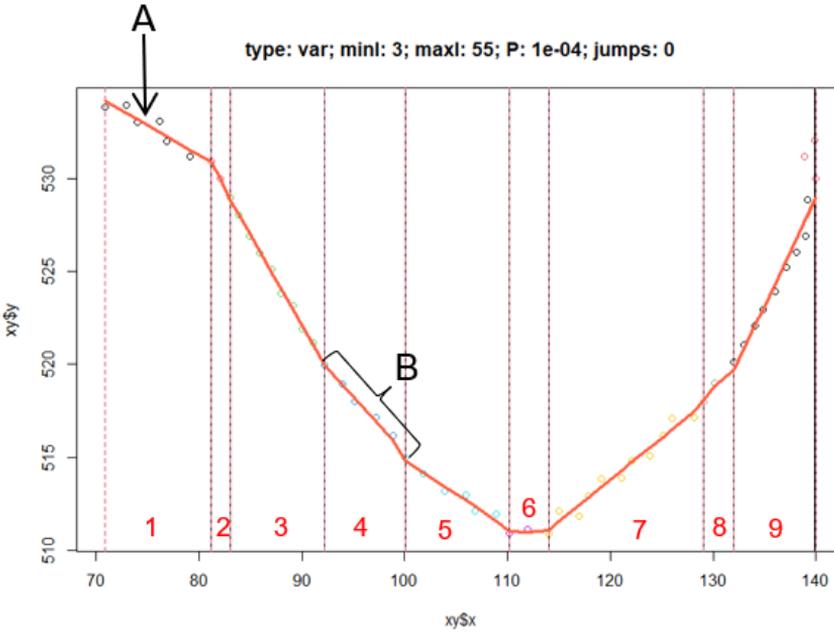


Figura 4.15. Ejemplo de una glándula de Meibomio ajustada utilizando un modelo de regresión lineal a trozos. La glándula se divide en segmentos en función de sus cambios de dirección. A: cada segmento se denota con el índice $k = 1, \dots, K$, donde K es el número total de segmentos. En la figura $K = 9$. B: longitud del segmento k -ésimo se denota por $L^{(k)}$. La longitud total de la glándula se define como la suma de las longitudes de los segmentos, $L_g = \sum_{k=1}^K L^{(k)}$.

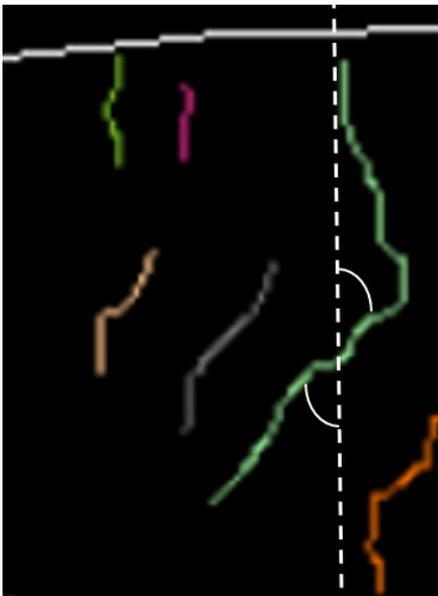


Figura 4.16. Ejemplo de medida de desviación de la vertical. Se toma de ejemplo la glándula de color verde y se cuantifica su desviación con respecto a la línea vertical discontinua representada en blanco. El resultado es una media de la desviación de cada segmento de los 90° . Cada segmento tiene su desviación.



Figura 4.17. Medida del área de glándulas de Meibomio. El área se expresa como la proporción de píxeles blancos dentro del área del párpado. La imagen del párpado se divide en dos zonas (línea discontinua roja): área superior y área inferior. La proporción de área global es la suma del porcentaje del área superior y del inferior.

4.1.2.3. Análisis estadístico

Descriptivos

Durante la exploración clínica, en cada sujeto, se evaluaron ambos ojos, seleccionando posteriormente uno de los ojos de manera aleatoria. Para las variables cualitativas (sexo), se muestran los porcentajes de cada nivel. Para las variables cuantitativas (Tabla 4.1) se muestra la media y el intervalo de confianza (IC) al 95% para la media, mínimo y máximo. Para las variables ordinales (Tabla 4.1), se muestran la mediana, rango intercuartílico (IQR), mínimo y máximo. Además, se comprobó la normalidad con el test de Shapiro-Wilk para muestras de menos de 50 individuos, y Kolmogorov-Smirnov para muestras de más de 50 individuos. Para las variables relacionadas con la morfología de las GM, se describe su relación con la edad, utilizando coeficiente de correlación de Spearman junto con un IC del 95% construido a partir de 5000 muestras *bootstrap*. En el caso del sexo, se evaluó la igualdad de

medianas de la variable cuantitativa entre los grupos definidos por la variable sexo.

Cálculo de intervalos de referencia

Intervalos de referencia (IR)

La manera más habitual de evaluar la capacidad que tienen algunas características para diagnosticar enfermedades es establecer diferencias entre dos o más grupos de individuos enfermos y sanos. Sin embargo, una aproximación más general es la construcción de IR, a partir de los cuales es posible establecer valores de esas características que pueden considerarse 'normales' en individuos sin la patología de estudio. Los IR, por tanto, pueden utilizarse como reglas diagnósticas que, conocido el valor de la característica en un individuo concreto, y comparando dicho valor con lo considerado 'normal', permiten clasificarlo en 'normal' o 'no-normal'.

El punto de partida para construir estos IR será una muestra representativa de la población considerada 'normal' y, habitualmente, se presentan como el IR entre un par de percentiles simétricos (por ejemplo, los percentiles 2,5 y 97,5 para el 95% o los percentiles 5 y 95 para el 90%). Consecuentemente, se obtendrán IR globales y un individuo será considerado 'no-normal' cuando su valor esté fuera de un rango. Aunque este método de construcción es muy sencillo, no tiene en cuenta otros factores, como por ejemplo la edad y el sexo, que podrían tener un efecto importante en los valores que pueden considerarse normales. Así, no es tan raro que, para una característica concreta, un mismo valor pueda ser 'normal' o 'no normal' dependiendo de la edad del individuo o de si es hombre o mujer. Una forma de tener en cuenta el efecto de algunos factores, sería considerar subpoblaciones de individuos, sin embargo, en

la práctica, esta solución podría ser inviable, ya que supone conseguir muestras representativas y suficientemente grandes en cada una de las subpoblaciones consideradas. Una solución más eficiente es utilizar modelos estadísticos. Dependiendo del tipo de modelo utilizado y los factores considerados, se pueden obtener soluciones distintas. En este caso se han utilizado modelos GAMLSS (*Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape*), propuestos por Rigby and Stasinopoulos,³⁰⁸ para estimar las curvas de percentiles de cada una de las variables relacionadas con la morfología de las GM teniendo en cuenta la posible influencia de la edad y el sexo del individuo.

Tabla 4.1. Tipos de variables incluidas en el análisis descriptivo.

Variables cuantitativas	Variables ordinales
Edad	
OSDI	
AV	
Espesor de capa lipídica	Hiperemia conjuntival bulbar
TFBUT	Hiperemia conjuntival tarsal
Tinción corneal	Grado de papilas
Línea de Marx	Expresión de las GM
Tinción conjuntival	Calidad de las GM
Número de GM obstruidas	Signos de inflamación del párpado
Número de orificios de las GM	
Test de Schirmer	
Variables de la morfología de las GM	

OSDI: *Ocular Surface Disease Index*, AV: agudeza visual, TFBUT: tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína, GM: glándulas de Meibomio.

Modelos GAMLSS

Los modelos GAMLSS son una extensión de los modelos lineales generalizados y de los modelos aditivos generalizados. Son modelos de regresión semi-paramétricos en los que todos los parámetros de la distribución de la variable dependiente (en este caso las variables relacionadas con la morfología de las GM) pueden ser modelizados como

función de las variables explicativas (en este caso edad y sexo). Se deben hacer asunciones sobre la forma de la distribución de la variable respuesta entre una gran variedad de distribuciones posibles, de forma que esta metodología proporciona una plataforma para ajustar, comparar y comprobar el funcionamiento de diferentes modelos, utilizando cuatro parámetros: localización (μ), escala (σ), asimetría (ν) y curtosis (τ), los dos primeros son los parámetros de localización y escala y los dos últimos están relacionados con la forma de la distribución: simetría y apuntamiento. Se utilizó el *package gamlss*,³⁰⁸ de R versión 4.2.1,³⁰⁶ para ajustar uno de estos modelos a cada una de las variables relacionadas con la morfología de las GM. En cada uno de los parámetros de los modelos, la influencia de las variables explicativas cuantitativas puede incluirse en el modelo de diferentes formas. En este caso, se incluyeron en los modelos las variables sexo (cualitativa) y edad (cuantitativa) de tres formas diferentes: como una constante, como una función lineal o como un *spline* cúbico.

En el caso de las variables relacionadas con la morfología de las GM, todas ellas cuantitativas, las distribuciones elegidas dependen del soporte de estas variables. Específicamente:

- Variables continuas con soporte $(0, \infty)$: longitud, distancia euclídea entre los extremos y anchura.
- Variables discretas de tipo conteo (toman valores $0, 1, 2, \dots$): número de glándulas y número de segmentos.
- Variables continuas con soporte $(0, 1)$: tortuosidad, desviación respecto de la vertical, y las áreas global y superior ya que son tratadas como proporción.

El número de parámetros (localización (μ), escala (σ), asimetría (ν) y curtosis (τ)) que tienen cada una de las distribuciones consideradas se muestran en la Tabla 4.2 para variables continuas con soporte $(0, \infty)$, Tabla 4.3 para variables de tipo conteo y Tabla 4.4 para variables continuas con soporte $(0, 1)$. Además, se incorpora el tipo de función de enlace que se utiliza con cada uno de los parámetros. Esta función indica la forma en la que las variables independientes son incluidas en la modelización de cada uno de los parámetros que caracterizan la distribución de las variables relacionadas con la morfología de las GM.

Tabla 4.2. Distribuciones y parámetros para variables continuas con soporte $(0, \infty)$: longitud, distancia euclídea entre los extremos y anchura.

Distribución	Acrónimo	μ	σ	ν	τ
Box-Cox Cole and Green	BCCG	identidad	log	identidad	-
Box-Cox Power Exponential	BCPE	identidad	log	identidad	log
Box-Cox-t	BCT	identidad	log	identidad	log
Exponential	EXP	log	-	-	-
Gamma	GA	log	log	-	-
Generalized beta type 2	GB2	log	log	log	log
Generalized Gamma	GG	log	log	identidad	-
Generalized Inverse Gaussian	GIG	log	log	identidad	-
Inverse Gamma	IGAMMA	log	log	-	-
Inverse Gaussian	IG	log	log	-	-
Log Normal	LOGNO	identidad	log	-	-
Pareto 2	PARETO2	log	log	-	-
Weibull	WEI	log	log	-	-

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. Identidad, y *log* son las funciones *logit* que se utilizan para cada parámetro.

Tabla 4.3. Distribuciones y parámetros para variables de tipo conteo: número de glándulas de Meibomio y número de segmentos.

Distribución	Acrónimo	μ	σ	ν	τ
Beta Negative Binomial	BNB	log	log	log	-
Delaporte	DEL	log	log	logit	-
Double Poisson	DPO	log	log	-	-
Geometric	GEOM	log	-	-	-
Logarithmic	LG	logit	-	-	-
Negative Binomial Family	NBF	Log	Log	identidad	
Poisson	PO	log	-	-	-
Poisson inverse Gaussian	PIG	Log	Log	-	-

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. Identidad, *log* y *logit* son las funciones *logit* que se utilizan para cada parámetro.

Tabla 4.4. Distribuciones y parámetros para variables continuas con soporte (0, 1): tortuosidad, desviación de la vertical, área global y área superior.

Distribución	Acrónimo	μ	σ	ν	τ
Beta	BE	logit	logit	-	-
Generalized beta type 1	GB1	logit	logit	log	log
Logit Normal	LOGITNO	identidad	log	-	-

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. Identidad, *log* y *logit* son las funciones *logit* que se utilizan para cada parámetro.

Elección del mejor modelo:

Para elegir el mejor modelo, se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC). Para hacer esta elección se tomaron dos decisiones.

La primera fue, una vez conocida la distribución a utilizar, qué variables explicativas debían incluirse para cada uno de los parámetros que la caracterizan. La Figura 4.18 resume el algoritmo paso a paso utilizado en este proceso. El modelo de partida fue el más sencillo posible, el modelo con todos los parámetros ajustados como constantes, es decir que no incluía ninguna de las variables explicativas. En la selección hacia adelante, se comprobó la mejora del modelo cuando se añadían las variables sexo y edad, en este último caso como una función lineal o como un *spline* cúbico, en cada uno de los parámetros de la distribución según el orden: μ , σ , ν y τ . Posteriormente se llevó a cabo una eliminación hacia atrás: partiendo del mejor modelo obtenido en la selección hacia adelante, se comprobó cómo mejoraba el modelo cuando se eliminaban cada una de las variables explicativas consideradas en cada parámetro. La eliminación se hizo siguiendo el orden inverso en los parámetros: τ , ν , σ y μ .

La segunda decisión tiene que ver con la mejor distribución, que se llevó a cabo utilizando el criterio AIC: se ajustó el modelo óptimo para cada una de las distintas distribuciones, el mejor modelo final fue el que tuvo menor AIC entre ellos. En caso de haber obtenido valores similares para cada distribución, se seleccionó la distribución más sencilla, es decir la que necesitaba menos parámetros. Con los valores predichos por el mejor modelo ajustado se estimaron los percentiles 2,5; 5; 50; 95 y 97,5.

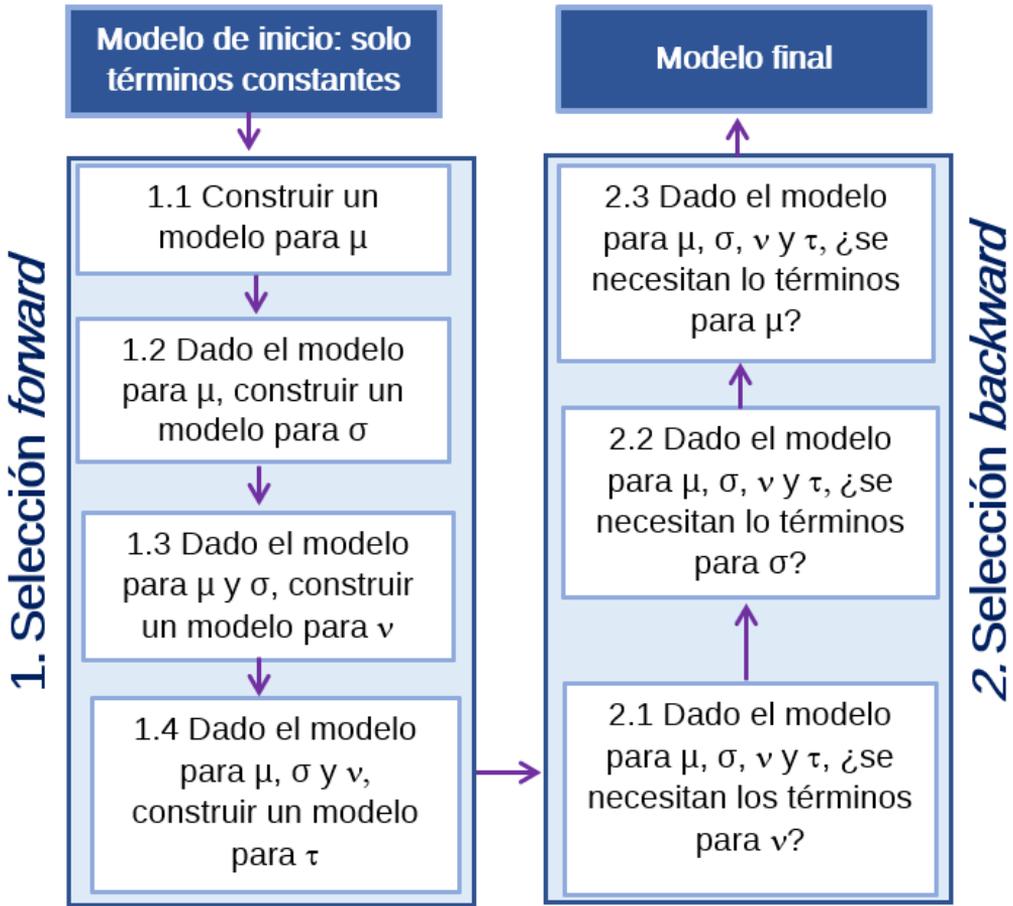


Figura 4.18. Pasos del algoritmo para seleccionar las variables explicativas relevantes dada una familia de distribuciones. La selección hacia delante (*forward*) comienza con el modelo más simple, el modelo con todos los parámetros ajustados como constantes, y evalúa la inclusión del sexo y la edad como una constante, como una función lineal o como un *spline* cúbico, utilizando el criterio de información de Akaike (AIC). La eliminación hacia atrás (*backward*) comienza con el mejor modelo ajustado en la selección *forward*, y evalúa la eliminación de cada variable explicativa utilizando el AIC. Los parámetros de la distribución son: μ = localización; σ = escala; ν = simetría; τ = curtosis.

Validación y diagnóstico de los modelos ajustados:

Para el diagnóstico del modelo, primero se evaluó la normalidad de los residuos cuantil aleatorizados (*randomized / normalised quantile residuals*)⁸⁴. Esta condición se evaluó mediante métodos gráficos (histograma de los residuos junto con el ajuste de la distribución normal correspondiente, *QQ plot* para los residuos, residuos versus valores predichos, y residuos versus valores de cada variable explicativa). Además, numéricamente, se comprobó que la media de los residuos fuera aproximadamente 0, la varianza aproximadamente 1, el coeficiente de simetría cercano a 0 y el coeficiente de curtosis cercano a 3. Además de la estimación puntual de cada uno de estos parámetros se construyeron IC para evaluar la significación estadística respecto del valor objetivo.

Además de los gráficos antes mencionados también se utilizó el *worm plot* (Apéndice 4.4, acceso desde el código QR) para identificar posibles rangos de las variables explicativas donde el modelo no se ajusta adecuadamente. La interpretación de los distintos elementos de este gráfico puede consultarse en el Apéndice 4.4. Este *plot* se puede hacer considerando intervalos no solapados de las variables explicativas y de esta manera evaluar en qué rangos el modelo se ajusta mejor o peor.

4.1.3. Resultados

4.1.3.1. *Descriptivos*

Se incluyeron 156 sujetos, el 50,64% de los participantes fueron hombres ($n = 79$) y el 49,36% mujeres ($n = 77$). La media de edad fue de 43,88 (IC 95%: 41,38 – 46,37), rango 16 – 76 años. La tabla 4.5 recoge el número de sujetos en cada rango de edad. La media de los síntomas oculares medidos con el cuestionario OSDI fue de 3,57 (IC 95%: 3,01 –

4,13) puntos (rango 0 – 12,5). La media en la AV fue de -0,04 (IC 95%: (-0,014) – 0,01) unidades LogMAR (rango (-0,26) – 0,86). Ninguna de estas variables cumplió la hipótesis de normalidad.

Tabla 4.5. Número de sujetos en cada rango de edad separados por sexo.

Rango de edad	Hombres	Mujeres	Total
≤ 20	5	2	7
(20,25]	10	12	22
(25,30]	9	6	15
(30,35]	5	6	11
(35,40]	3	4	7
(40,45]	8	8	16
(45,50]	10	7	17
(50,55]	7	8	15
(55,60]	11	9	20
(60,65]	5	10	15
(65,70]	4	3	7
(70,75]	2	0	2
(75,80]	0	2	2

Los valores descriptivos de las variables evaluadas de la superficie ocular: espesor de capa lipídica de la PL, el grado de hiperemia conjuntival bulbar y tarsal, el grado de papilas, el tiempo de ruptura lagrimal, la tinción corneal, la línea de Marx y la tinción conjuntival, el grado de signos de inflamación del párpado, la expresión y la calidad de la secreción de las GM, el número de GM obstruidas, el número de orificios de GM y el test de Schirmer se recogen en la Tabla 4.6. Ninguna de estas variables cumplió la hipótesis de normalidad. En la Tabla 4.7. se incluyen los valores descriptivos de las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuas con soporte $(0, \infty)$. En la Tabla 4.8 se incluyen los valores medios de las variables de tipo conteo y en la Tabla 4.9, los valores medios de las variables continuas con soporte $(0,$

1). En ningún caso se encontró relación estadísticamente significativa con la edad y el sexo (los coeficientes de correlación de Spearman se pueden consultar en el Apéndice 4.5).

Tabla 4.6. Valores descriptivos de las variables evaluadas de la superficie ocular para sujetos sanos.

Variable	Media (IC 95%)	Rango
Espesor de capa lipídica (nm)	73,52 (71,12 – 75,91)	42 – 100
TFBUT (segundos)	9,8 (9,47 – 10,85)	2,33 – 38
Tinción corneal (CCLRU) (0 – 20)	0,29 (0,18 – 0,39)	0 – 4
Línea de Marx (0 – 18)	5,25 (4,69 – 5,81)	0 – 15
Tinción conjuntival (0 – 5)	0,47 (0,31 – 0,63)	0 – 4
Test de Schirmer (mm)	17,44 (15,34 – 19,53)	1 – 35
Mediana [IQR]		
Hiperemia bulbar (0 – 4)	1 [0]	0 – 3
Hiperemia tarsal (0 – 4)	1 [1]	0 – 3
Papilas (0 – 4)	0 [2]	0 – 2
Tinción corneal (Oxford) (0 – 5)	0 [0]	0 – 1
Signos de inflamación (0 – 4)	1 [0]	0 – 3
Expresión (0 – 3)	0 [1]	0 – 2
Calidad (0 – 3)	1 [1]	0 – 2
Número GM de obstruidas PS	0 [0]	0 – 1
Número GM de obstruidas PI	0 [0]	0 – 2
Número de orificios PS	18 [3]	10 – 28
Número de orificios PI	18 [3]	12 – 30

IC: intervalo de confianza, nm: nanómetros, TFBUT: tiempo de ruptura lagrimal, CCLRU: *cornea and Contact Lens Research Unit*, mm: milímetros, IQR: rango intercuartílico, GM: glándulas de Meibomio, PS: párpado superior, PI: párpado inferior.

Tabla 4.7. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte $(0, \infty)$.

Variable	Sexo	Media (IC 95%)	Rango
Longitud (mm)	Hombres	1,88 (1,76 – 2,01)	0,7 – 3,77
	Mujeres	1,95 (1,8 – 2,1)	0,66 – 4,03
	Total	1,91 (1,82 – 2,01)	0,66 – 4,03
Distancia euclídea (mm)	Hombres	1,74 (1,62 – 1,86)	0,74 – 3,16
	Mujeres	1,85 (1,71 – 1,99)	0,67 – 3,89
	Total	1,8 (1,71 – 1,89)	0,67 – 3,89
Anchura (mm)	Hombres	0,3 (0,29 – 0,31)	0,18 – 0,42
	Mujeres	0,3 (0,29 – 0,31)	0,2 – 0,42
	Total	0,3 (0,29 – 0,31)	0,18 – 0,42

IC: intervalo de confianza, mm: milímetros.

Tabla 4.8. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo conteo.

Variable	Sexo	Media (IC 95%)	Rango
Número de GM	Hombres	16,35 (15,26 – 17,45)	9 – 32
	Mujeres	15,74 (14,65 – 16,83)	7 – 26
	Total	16,05 (15,28 – 16,82)	7 – 32
Número de segmentos	Hombres	6,03 (5,64 – 6,41)	2,27 – 11,15
	Mujeres	6,11 (5,66 – 6,57)	2,22 – 13,38
	Total	6,07 (5,77 – 6,36)	2,22 – 13,38

IC: intervalo de confianza, GM: glándulas de Meibomio.

Tabla 4.9. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte (0 – 1).

Variable	Sexo	Media (IC 95%)	Rango
Tortuosidad (0 – 1)	Hombres	0,31 (0,3 – 0,32)	0,09 – 0,44
	Mujeres	0,3 (0,29 – 0,31)	0,15 – 0,43
	Total	0,3 (0,3 – 0,31)	0,09 – 0,44
Desviación de la vertical (0 – 1)	Hombres	0,37 (0,36 – 0,38)	0,26 – 0,49
	Mujeres	0,36 (0,35 – 0,38)	0,27 – 0,52
	Total	0,37 (0,36 – 0,38)	0,26 – 0,52
Área global (0 – 1)	Hombres	0,14 (0,14 – 0,15)	0,07 – 0,22
	Mujeres	0,15 (0,14 – 0,15)	0,05 – 0,21
	Total	0,14 (0,14 – 0,15)	0,05 – 0,22
Área superior (0 – 1)	Hombres	0,64 (0,63 – 0,66)	0,48 – 0,86
	Mujeres	0,62 (0,6 – 0,63)	0,46 – 0,81
	Total	0,63 (0,62 – 0,64)	0,46 – 0,86

IC: intervalo de confianza.

4.1.3.2. *Intervalos de referencia:*

Las distribuciones evaluadas y el modelo elegido para las variables relacionadas con la morfología de las GM de tipo continuo con soporte (0, ∞) se incluyen en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte (0, ∞).

		Longitud	Distancia euclídea	Anchura
Box-Cox Cole and Green	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $v \sim age$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $v \sim age$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$ $v \sim 1$
	AIC	287,5930	257,6951	-503,74134

Tabla 4.10. Continuación. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte $(0, \infty)$.

		Longitud	Distancia euclídea	Anchura
Box-Cox Power Exponential	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim cs(age) + sex$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim age$ $\tau \sim cs(age)$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$
	AIC	286,9563	257,4913	-502,48130
Box-Cox-t	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim age$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim age$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$
	AIC	289,4279	259,6677	-501,74135
Exponential	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$	$\mu \sim 1$	$\mu \sim 1$
	AIC	516,6993	496,8343	-62,28570
Gamma	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$
	AIC	286,1772	256,4553	-505,37527
Generalized beta type 2	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$
	AIC	289,8034	260,0296	-500,34828
Generalized Gamma	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim age$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim age$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$ $\nu \sim 1$
	AIC	287,3215	257,2741	-503,67092

Tabla 4.10. Continuación. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte $(0, \infty)$.

		Longitud	Distancia euclídea	Anchura
Generalized Inverse Gaussian	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$ $\nu \sim 1$
	AIC	288,1797	258,0609	-507,02426
Inverse Gamma	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim age$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$
	AIC	299,1743	261,7928	-500,88450
Inverse Gaussian	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$
	AIC	292,4163	258,7846	-503,83254
Log Normal	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$
	AIC	290,0899	256,6615	-503,89147
Pareto 2	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$
	AIC	519,2565	499,3914	-59,72867
Weibull	Especificación del modelo	$\mu \sim cs(age)$ $\sigma \sim sex$	$\mu \sim cs(age)+sex$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim age$
	AIC	295,9991	272,2993	-494,33151

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. ~ 1 : no se incluye ninguna de las variables explicativas, $\sim age$ (sex): se incluye la variable correspondiente de forma lineal, $\sim cs$ (age): se añade la edad como un *spline* cubico. En gris se indica el mejor modelo, según el criterio AIC, para cada variable. GM: glándulas de Meibomio.

Para la longitud y la distancia euclídea entre los extremos se escogió la distribución Gamma. Ambas variables tienen una dependencia de la edad en el parámetro de localización (μ), con un aumento entre los 25 y

los 60 años (Figura 4.19 y Figura 4.20). Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.11 para la longitud y Tabla 4.12 para la distancia euclídea entre los extremos.

El IR para la longitud fue 0,87 – 2,51 mm en menores de 20 años. Entre los 25 y los 50 años sufrieron un aumento, sobre todo el límite superior, siendo el IR 1,12 – 3,22 mm para sujetos de entre 45 y 50 años. A partir de los 50 años descendieron, obteniendo valores de 0,89 – 2,57 mm para sujetos de entre 75 y 80 años.

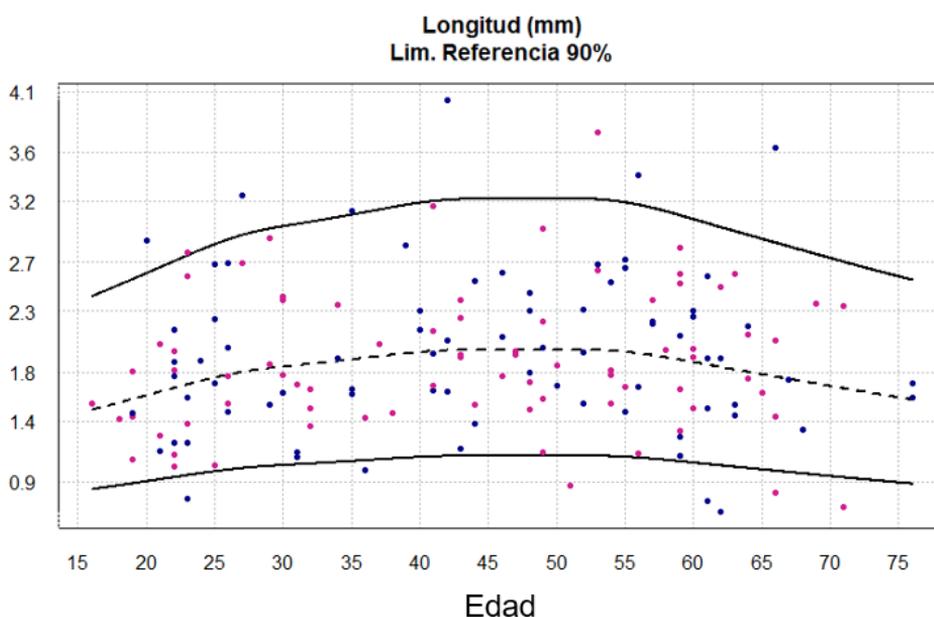


Figura 4.19. Intervalos de referencia al 90% para la longitud estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y la longitud en mm en el eje y.

Tabla 4.11. Percentiles estimados por el modelo para la longitud en el párpado superior. Distribución gamma con parámetro de localización (μ) dependiente de la edad.

Edad (años)	Percentiles				
	2,5	5	50	95	97,5
≤ 20	0,77	0,87	1,55	2,51	2,73
(20 – 25]	0,84	0,95	1,68	2,73	2,97
(25 – 30]	0,9	1,01	1,81	2,93	3,19
(30 – 35]	0,93	1,05	1,87	3,04	3,31
(35 – 40]	0,96	1,09	1,93	3,14	3,41
(40 – 45]	0,98	1,11	1,98	3,21	3,49
(45 – 50]	0,99	1,12	1,99	3,22	3,5
(50 – 55]	0,98	1,11	1,98	3,21	3,49
(55 – 60]	0,96	1,08	1,93	3,13	3,4
(60 – 65]	0,91	1,03	1,83	2,97	3,23
(65 – 70]	0,86	0,97	1,73	2,81	3,06
(70 – 75]	0,81	0,92	1,64	2,66	2,89
(75 – 80]	0,79	0,89	1,58	2,57	2,79

Para la distancia euclídea entre los extremos, el IR varió de 0,82 – 2,28 mm para sujetos menores de 20 años, hasta 0,85 – 2,37 mm para sujetos de entre 75 y 80 años. Al igual que la longitud, los límites de los IR, sobre todo el superior, sufrieron un aumento hasta los 50 – 55 años, llegando a 1,07 – 2,98 mm.

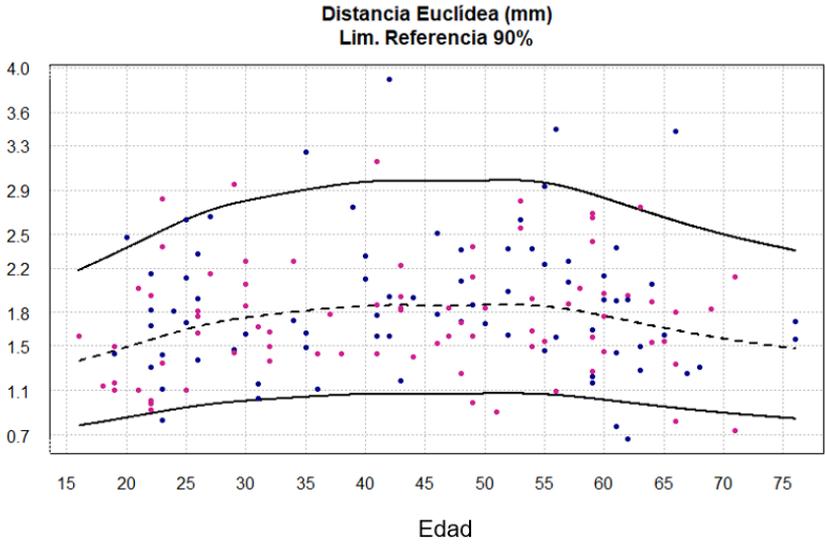


Figura 4.20. Intervalos de referencia al 90% para la distancia euclídea entre los extremos estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y la distancia euclídea entre los extremos en mm en el eje y.

Tabla 4.12. Percentiles estimados por el modelo para la distancia euclídea entre los extremos en el párpado superior. Distribución gamma con parámetro de localización (μ) dependiente de la edad.

Edad (años)	Percentiles				
	2,5	5	50	95	97,5
≤ 20	0,73	0,82	1,43	2,28	2,47
(20 – 25]	0,8	0,9	1,57	2,51	2,72
(25 – 30]	0,87	0,98	1,71	2,73	2,96
(30 – 35]	0,91	1,02	1,78	2,85	3,1
(35 – 40]	0,94	1,05	1,84	2,94	3,19
(40 – 45]	0,95	1,07	1,86	2,98	3,23
(45 – 50]	0,95	1,07	1,86	2,98	3,23
(50 – 55]	0,95	1,07	1,87	2,98	3,24
(55 – 60]	0,93	1,04	1,82	2,9	3,15
(60 – 65]	0,87	0,98	1,71	2,74	2,97
(65 – 70]	0,82	0,92	1,61	2,57	2,79
(70 – 75]	0,78	0,87	1,52	2,44	2,64
(75 – 80]	0,75	0,85	1,48	2,37	2,57

Para la anchura se escogió la distribución *generalized inverse Gaussian*. La variabilidad del IR se vio afectada por la edad, utilizada en la modelización del parámetro de escala (σ) de forma lineal, de manera que los IR se mantienen constantes hasta que se estrechan a partir de los 60 años (Figura 4.21). Los IR se mantuvieron constantes entre los 20 y los 60 años (0,22 – 0,38 mm). A partir de los 65 años, el IR se estrecha obteniendo valores de 0,27 – 0,33 mm para sujetos de entre 75 y 80 años, es decir la variabilidad disminuye a partir de dicha edad. Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.13.

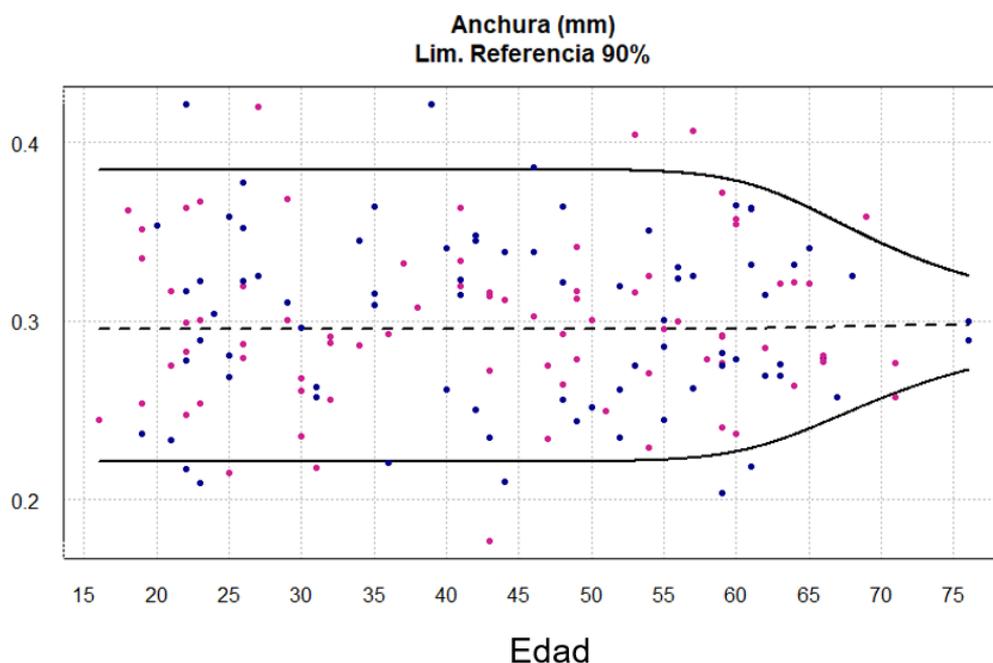


Figura 4.21. Intervalos de referencia al 90% para la anchura estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y la anchura en mm en el eje y.

Tabla 4.13. Percentiles estimados por el modelo para la anchura en el párpado superior. Distribución *generalized inverse Gaussian* con parámetro de localización (μ) dependiente de la edad.

Edad (años)	Percentiles				
	2,5	5	50	95	97,5
≤ 20	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(20 – 25]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(25 – 30]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(30 – 35]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(35 – 40]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(40 – 45]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(45 – 50]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(50 – 55]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(55 – 60]	0,21	0,22	0,3	0,38	0,4
(60 – 65]	0,22	0,23	0,3	0,37	0,39
(65 – 70]	0,24	0,25	0,3	0,35	0,37
(70 – 75]	0,26	0,26	0,3	0,34	0,34
(75 – 80]	0,27	0,27	0,3	0,33	0,33

Las distribuciones evaluadas y el modelo elegido para las variables de tipo conteo se incluyen en la Tabla 4.14.

Para el número de GM se escogió la distribución *Poisson inverse Gaussian*. El número de GM no se vio afectado por la edad ni por el sexo, por lo que se mantiene constante con la edad en el IR 8 – 27. (Figura 4.22). Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.15.

Tabla 4.14. Distribuciones para las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo conteo.

		Nº de GM	Nº de segmentos
Beta Negative Binomial	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$
	AIC	982,7176	970
Geometric	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$	$\mu \sim 1$
	AIC	1189,569	901,067
Logarithmic	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$	$\mu \sim 1$
	AIC	1376,819	989,2006
Delaporte	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim \text{age}$ $\nu \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$
	AIC	934,0528	657,8997
Double Poisson	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim \text{cs}(\text{age})$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$
	AIC	932,9732	631,2922
Negative Binomial Family	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim \text{age}$ $\nu \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$
	AIC	934,0061	657,8997
Poisson	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$	$\mu \sim 1$
	AIC	942,4397	653,8995
Poisson inverse Gaussian	Especificación del modelo	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$
	AIC	931,8653	633,8991

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. En negrita se indica el mejor modelo para cada variable. GM: glándulas de Meibomio.

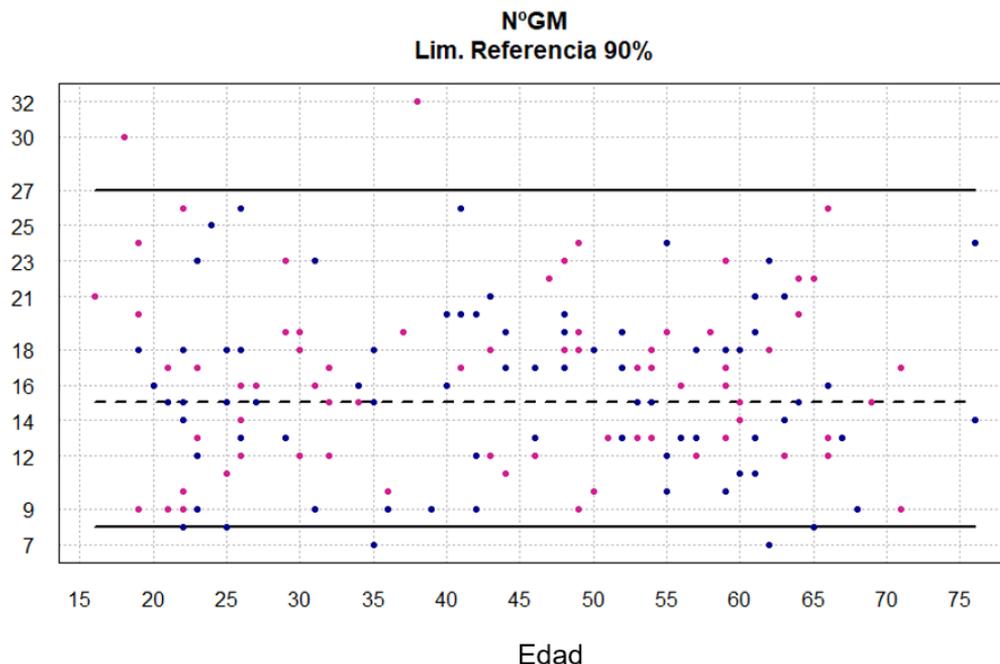


Figura 4.22. Intervalos de referencia al 90% para el número de glándulas de Meibomio estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y el número de glándulas de Meibomio en el eje y.

Tabla 4.15. Percentiles estimados por el modelo para el número de glándulas de Meibomio en el párpado superior. Distribución *Poisson inverse Gaussian* con parámetro de escala (σ) dependiente de la edad de forma lineal.

		Percentiles			
2,5	5	50	95	97,5	
6	8	15	27	29	

Para el número de segmentos se escogió la distribución *double Poisson*. Ni la edad ni el sexo tuvieron efecto en los parámetros de la distribución, por lo que el número de segmentos se mantiene constante con la edad con un IR 3 – 9 (Figura 4.23). Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.16.

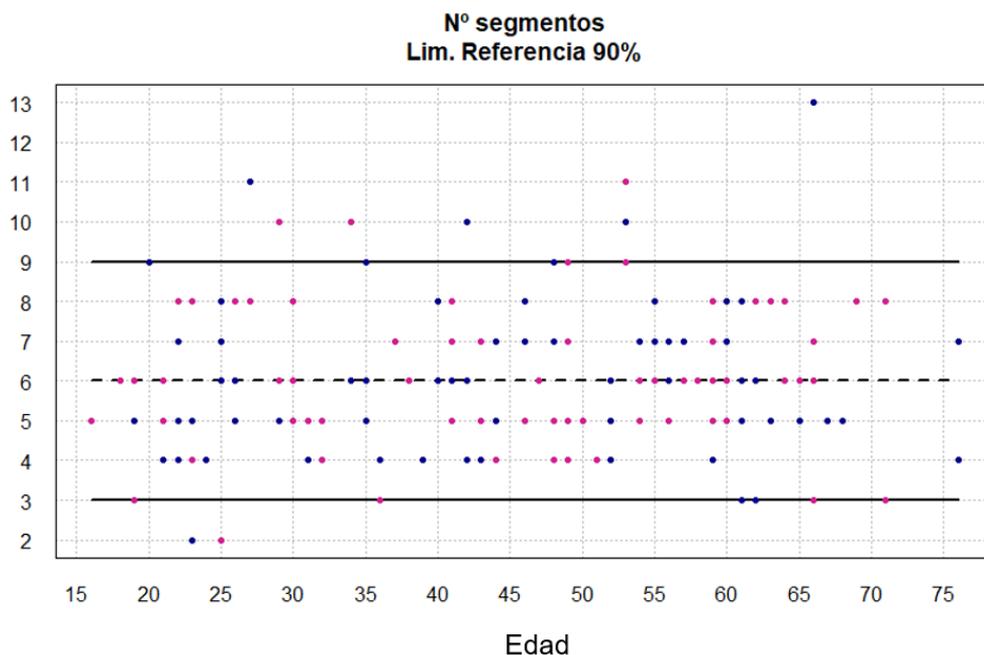


Figura 4.23. Intervalos de referencia al 90% para el número de segmentos estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y el número de segmentos en el eje y.

Tabla 4.16. Percentiles estimados por el modelo para el número de segmentos en el párpado superior. Distribución *double Poisson*.

Percentiles				
2,5	5	50	95	97,5
3	3	6	9	10

Las distribuciones evaluadas y el modelo elegido para las variables continuas con soporte (0, 1) se incluyen en la Tabla 4.17.

Tabla 4.17. Distribuciones para las variables continuas relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de tipo continuo con soporte (0 – 1).

		Tortuosidad	Desviación de la vertical	Área global	Área superior
Beta	Especificación del modelo	$\mu \sim \text{age}$ $\sigma \sim \text{cs}(\text{age})$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim \text{sex}$ $\sigma \sim \text{age}$
	AIC	-450,4152	-485,5772	-578,5055	-390,1889
Generalized beta type 1	Especificación del modelo	$\mu \sim \text{age}$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim \text{age}$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim 1$	$\mu \sim \text{sex}$ $\sigma \sim \text{age}$ $\nu \sim 1$ $\tau \sim \text{cs}(\text{age})$
	AIC	-449,5479	-481,7266	-575,2008	-395,3393
Logit normal	Especificación del modelo	$\mu \sim \text{age}$ $\sigma \sim \text{cs}(\text{age})$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim 1$ $\sigma \sim 1$	$\mu \sim \text{sex}$ $\sigma \sim \text{age} + \text{sex}$
	AIC	-446,4437	-486,5382	-569,8229	-386,4021

μ : parámetro de localización, σ : parámetro de escala, ν : parámetro de asimetría, τ : parámetro de curtosis. En negrita se indica el mejor modelo para cada variable. GM: glándulas de Meibomio.

Para la tortuosidad se escogió la distribución *beta*. La edad tuvo influencia en el parámetro de localización (μ) de la tortuosidad de forma lineal, también en el parámetro de escala (σ) como un *spline* cúbico, de manera que los IR contienen valores de tortuosidad ligeramente mayores a medida que aumenta la edad, y además se estrechan entre los 45 y los 60 años (Figura 4.24). El IR para sujetos menores de 20 años fue 0,19 – 0,4. A los 50 años, el IR se estrecha en 0,24 – 0,38 y vuelve a ensancharse a partir de los 75 años, siendo el IR 0,22 – 0,43. Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.18.

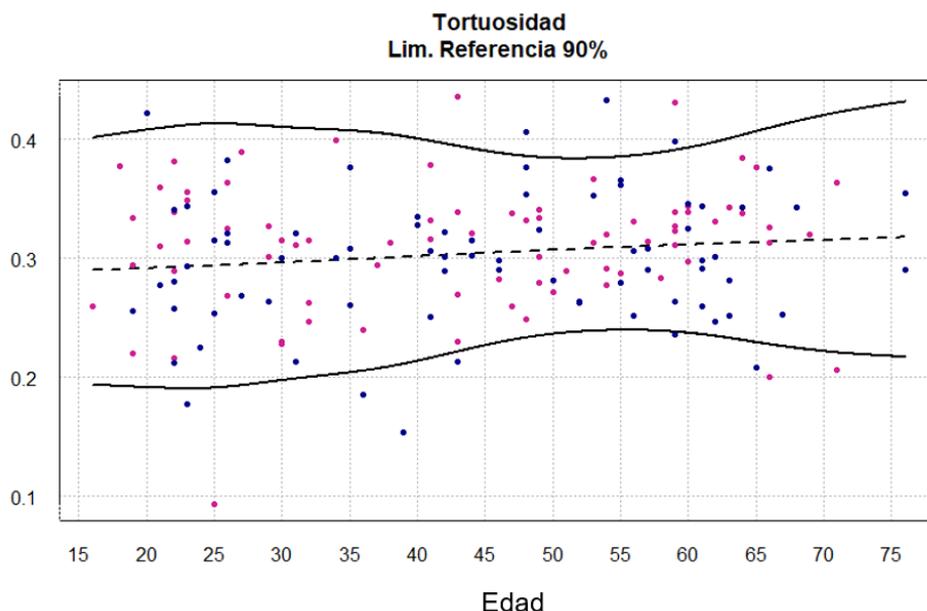


Figura 4.24. Intervalos de referencia al 90% para la tortuosidad estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y la tortuosidad de 0 a 1 en el eje y.

Tabla 4.18. Percentiles estimados por el modelo para la tortuosidad. Distribución beta con parámetro de localización (μ) y escala (σ) dependientes de la edad.

Edad (años)	Percentiles				
	2,5	5	50	95	97,5
≤ 20	0,18	0,19	0,29	0,4	0,43
(20 – 25]	0,17	0,19	0,29	0,41	0,43
(25 – 30]	0,18	0,19	0,3	0,41	0,44
(30 – 35]	0,18	0,2	0,3	0,41	0,43
(35 – 40]	0,19	0,21	0,3	0,4	0,43
(40 – 45]	0,21	0,22	0,3	0,4	0,41
(45 – 50]	0,22	0,23	0,31	0,39	0,4
(50 – 55]	0,23	0,24	0,31	0,38	0,4
(55 – 60]	0,23	0,24	0,31	0,39	0,4
(60 – 65]	0,22	0,23	0,31	0,4	0,42
(65 – 70]	0,21	0,23	0,31	0,41	0,43
(70 – 75]	0,2	0,22	0,32	0,43	0,45
(75 – 80]	0,2	0,22	0,32	0,43	0,45

Para la desviación de la vertical se escogió la distribución *logit*. Ni la edad ni el sexo tuvieron influencia en los parámetros de la distribución, de manera que la desviación de la vertical se mantiene constante con la edad en el IR 0,29 – 0,45 (Figura 4.25). Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.19.

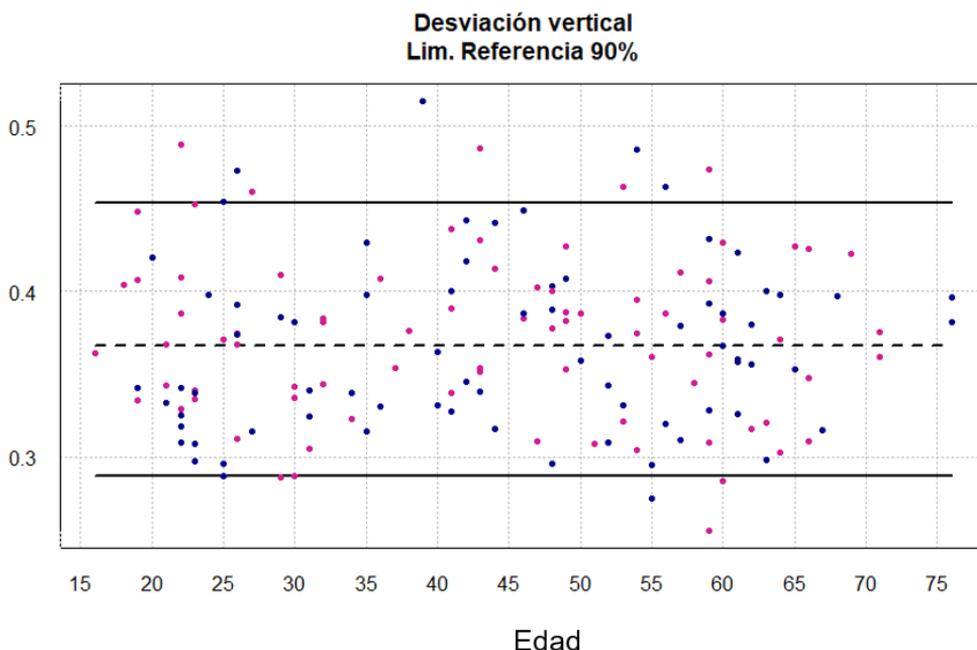


Figura 4.25. Intervalos de referencia al 90% para la desviación de la vertical estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y la desviación de la vertical de 0 a 1 en el eje y.

Tabla 4.19. Percentiles estimados por el modelo para la desviación de la vertical en el párpado superior. Distribución *logit normal*.

Percentiles				
2,5	5	50	95	97,5
0,2743818	0,2883051	0,3672308	0,4539805	0,4711005

Para el área global se escogió la distribución *generalized beta type 1*. Ni la edad ni el sexo tuvieron influencia en los parámetros de la distribución, de manera que el área global se mantiene constante con la edad en el IR 0,08 – 0,2 (Figura 4.26). Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.20.

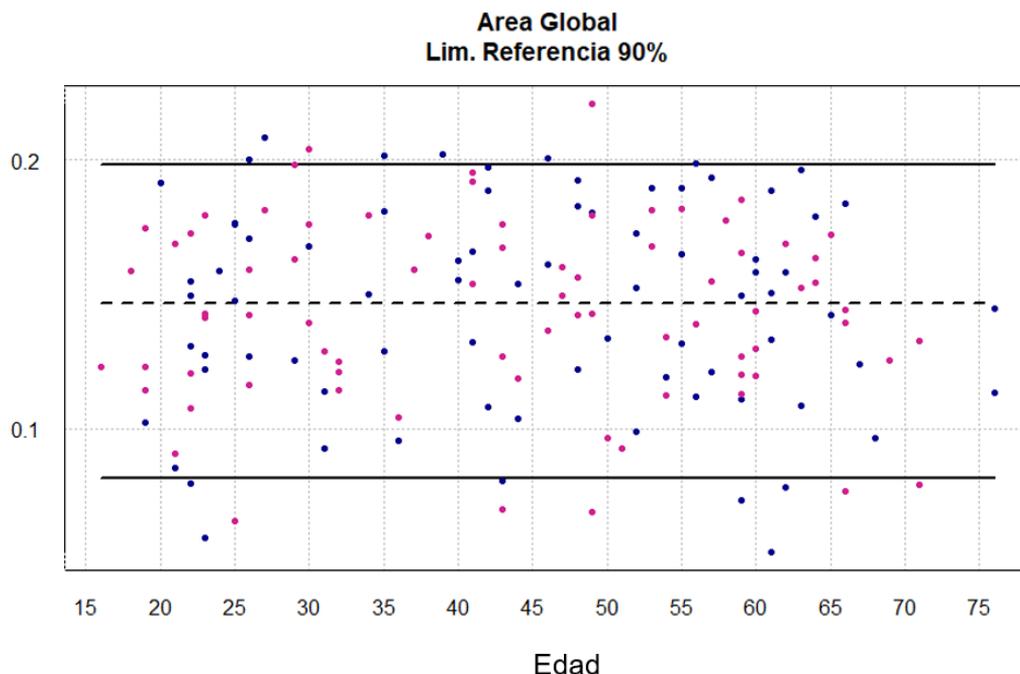


Figura 4.26. Intervalos de referencia al 90% para el área global estimados con GAMLSS. Los puntos rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y el área global de 0 a 1 en el eje y.

Tabla 4.20. Percentiles estimados por el modelo para el área global en el párpado superior. Distribución beta.

Percentiles				
2,5	5	50	95	97,5
0,07131282	0,08170082	0,1464754	0,1980663	0,2042012

Para el área superior se escogió la distribución *beta*. La edad tuvo influencia para el parámetro de escala (σ) y curtosis (τ), de manera que los IR se ensanchan a partir de los 55 años. El sexo se utiliza en la modelización del parámetro de localización, de forma que, el área superior muestra, en general, valores mayores para los hombres. (Figura 4.27). Así, los IR para los hombres se situaron en 0,58 – 0,74 para sujetos menores de 20 años y en 0,56 – 0,71 para las mujeres. En ambos casos el límite inferior decreció a partir de este momento, obteniendo el valor más bajo en el grupo de edad de 55-60 años, aumentando de nuevo hasta los 75-80 años. El límite superior aumentó con la edad tanto para hombres como para mujeres. Los valores de los percentiles se incluyen en la Tabla 4.21.

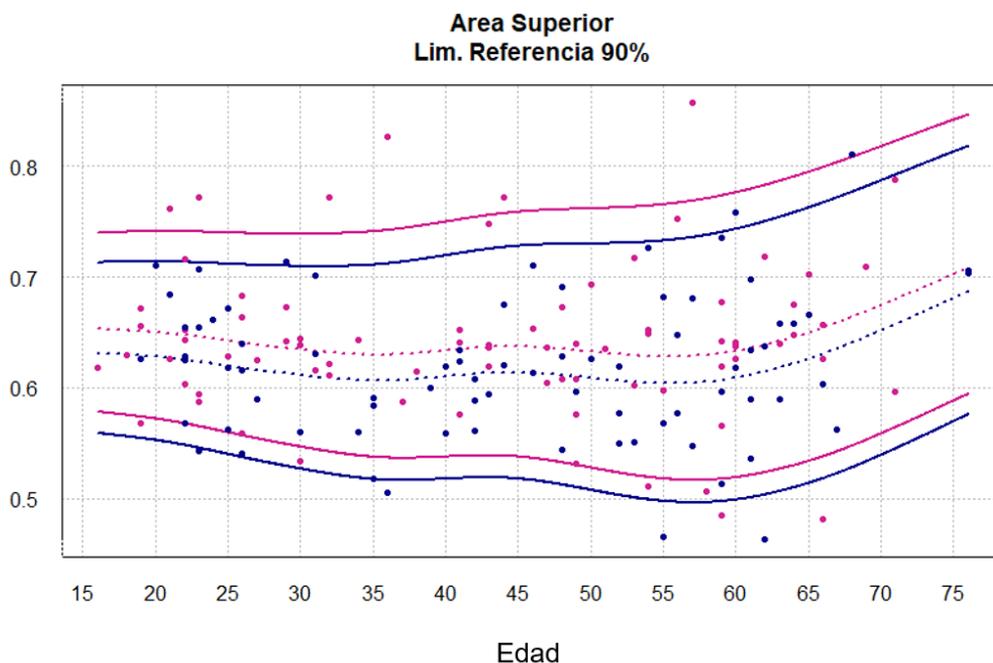


Figura 4.27. Intervalos de referencia al 90% para el área superior estimados con GAMLSS. Los puntos y líneas rosas representan a los hombres y los azules a las mujeres. La edad se representa en el eje x y el área global de 0 a 1 en el eje y.

Tabla 4.21. Percentiles estimados por el modelo para el área superior. Distribución Generalized beta type 1 con parámetro de localización (μ) dependiente de la edad, y parámetros de escala (σ) y curtosis (τ) dependientes del sexo.

Edad (años)	Percentiles hombres					Percentiles mujeres				
	2,5	5	50	95	97,5	2,5	5	50	95	97,5
≤ 20	0,56	0,58	0,65	0,74	0,76	0,54	0,56	0,63	0,71	0,73
(20 – 25]	0,55	0,57	0,65	0,74	0,76	0,53	0,55	0,62	0,71	0,73
(25 – 30]	0,54	0,55	0,64	0,74	0,76	0,52	0,53	0,62	0,71	0,73
(30 – 35]	0,53	0,54	0,63	0,74	0,76	0,51	0,52	0,61	0,71	0,73
(35 – 40]	0,52	0,54	0,63	0,74	0,77	0,5	0,52	0,61	0,71	0,74
(40 – 45]	0,52	0,54	0,64	0,75	0,78	0,5	0,52	0,61	0,72	0,75
(45 – 50]	0,52	0,53	0,64	0,76	0,79	0,5	0,51	0,61	0,73	0,75
(50 – 55]	0,5	0,52	0,63	0,76	0,79	0,48	0,5	0,61	0,73	0,76
(55 – 60]	0,5	0,52	0,63	0,77	0,8	0,48	0,5	0,61	0,74	0,77
(60 – 65]	0,51	0,53	0,64	0,78	0,82	0,49	0,51	0,62	0,75	0,78
(65 – 70]	0,53	0,55	0,66	0,81	0,84	0,51	0,53	0,64	0,77	0,8
(70 – 75]	0,55	0,57	0,69	0,83	0,86	0,53	0,55	0,67	0,8	0,83
(75 – 80]	0,57	0,59	0,71	0,84	0,87	0,55	0,57	0,68	0,82	0,84

Todas las variables se ajustaron a los modelos calculados de acuerdo con el análisis de residuos (Apéndice 4.4, acceso desde el código QR).

4.1.4. Discusión

En este estudio se han establecido los IR, ajustados para la edad y el sexo, de las diferentes características morfológicas de las GM en el párpado superior. La función de los IR es describir el rango normal de una variable y se utilizan como regla diagnóstica en estudios clínicos.³⁰⁹ Para la construcción de los IR se ha tenido en cuenta la dependencia de la edad de forma continua, por lo que son válidos para todo el rango de edad observado. En la muestra aparecen algunos intervalos de edad menos frecuentes, lo que podría llevar a pensar que individuos en esos rangos de edad están infra-representados. Sin embargo, es importante

destacar que, para la selección de los individuos se tuvo en cuenta la similitud con la pirámide de población europea tanto en relación con la edad y como al sexo.

Tradicionalmente se ha descrito que la morfología de las GM cambia con la edad, especialmente el grado de pérdida de GM, aumentando con la edad.^{29,31,53,54} Sin embargo, la evaluación de las imágenes de meibografía para calcular ese grado de pérdida se realiza normalmente de manera subjetiva mediante escalas graduadas,^{29,30} o con el software *Image J*,⁴¹ que requiere una gran intervención manual, siendo así su procesado lento y con un gran componente subjetivo por parte del observador. Además, aunque se ha descrito una correlación positiva entre la edad y el grado de pérdida, no está claro a partir de qué edad empezarían esos cambios, ya que algunos autores lo sitúan entre los 20 y los 30 años,^{29,210} mientras que otros han observado también pérdida de GM en niños y adolescentes.^{205,212}

Para solventar estas limitaciones, este estudio plantea dos novedades: en primer lugar, se han evaluado nuevas variables relacionadas con la morfología de las GM medidas objetivamente. En segundo lugar, se ha analizado cuáles de estas variables dependen de la edad y/o del sexo y se han calculado los IR que configuran la regla diagnóstica de lo que se define como 'normal' y como 'no -normal', en función de si el valor de la característica correspondiente en un individuo concreto se encuentra dentro o fuera del IR.

En este estudio, se ha observado que la longitud media de las GM fue de 1,91 mm (IC: 95% 1,82 – 2,01). Existen discrepancias entre los estudios que han cuantificado anteriormente la longitud de las GM. Ban *et al.*³¹ recogieron imágenes de meibografía de 37 sujetos controles

(media de edad = $46,5 \pm 15,4$ años) con una cámara acoplada a la lámpara de hendidura (XC-EI50, Sony, Tokio, Japón) y un dispositivo de luz infrarroja. Además de evaluar el grado de pérdida de GM con la escala de Arita *et al.*,²⁹ cuantificaron la longitud de las 5 GM centrales del párpado superior con el software *Image J*. Obtuvieron un valor medio de $5,53 \pm 1,27$ mm, con una variación de entre 6,19 mm para sujetos menores de 39 años y 4,83 mm en sujetos mayores de 60 años. Estos resultados presentan una longitud mayor que en el presente estudio para el rango de edad comparable (IR para el rango de edad 45 – 50 años = 1,12 – 3,22 mm) y puede deberse a un sesgo introducido por la selección de las 5 GM centrales ya que en el centro del párpado las GM son más largas. Por el contrario, en el presente estudio se ha cuantificado la longitud de todas las GM, a excepción de una pequeña región de las zonas temporal y nasal, que no se tuvieron en cuenta por su menor visibilidad. En otro estudio realizado por Xiao *et al.*,⁵² analizaron de forma automática 15 imágenes de meibografía del párpado superior tomadas con el topógrafo Keratograph 5M de sujetos con diferentes grados de pérdida de GM. Los resultados que obtuvieron variaron desde $2,62 \pm 0,76$ mm para el mayor grado de pérdida, hasta $5,62 \pm 1,25$ mm para el menor grado de pérdida. Los resultados de ese estudio también fueron mayores que en el presente estudio, aunque es difícil saber a qué se deben las diferencias ya que Xiao *et al.*⁵² no aportan datos demográficos sobre la edad de los sujetos incluidos en su estudio ni tampoco otros datos clínicos más allá del grado de pérdida de las GM. Quizás la diferencia entre ambos estudios pueda deberse a la diferencia de visibilidad en las imágenes al utilizar instrumentos distintos. En el estudio de Llorens-Quintana *et al.*,⁴⁴ recogieron imágenes de meibografía del párpado superior de 149 sujetos (media de edad = 42 ± 17 años) con diferentes

grados de pérdida de GM según la escala de Arita *et al.*,²⁹ realizadas también con el topógrafo Keratograph 5M. Cuantificaron la longitud de las GM con un software automático propio y obtuvieron valores de entre 1,3 mm para un grado 3 de pérdida y 2,9 mm para un grado 0 de pérdida. Los valores de longitud obtenidos en el presente estudio están más en la línea de los publicados por este grupo para el rango de edad comparable (IR para el rango de edad 40 – 45 años = 1,11 – 3,21 mm), obtenidos también de manera automática.

En el presente estudio se ha observado una influencia de la edad en la longitud de las GM, pero no del sexo. Los IR para esta medida sufren un aumento entre los 25 y los 50 años, descendiendo de nuevo a partir de este momento.

En el estudio de Ban *et al.*,³¹ también se evaluó la relación entre la longitud de las GM y la edad. Encontraron una correlación inversa moderada y significativa con la edad ($R = -0,485$; $p < 0,05$), no encontrando diferencias entre hombres y mujeres. Sin embargo, en el presente estudio, se ha observado un aumento de la longitud hasta los 50 años. Estas diferencias pueden deberse a que los autores solo midieron la longitud de 5 GM centrales, mientras que en el presente estudio se han incluido todas las GM. La edad media de sus sujetos fue de $46,5 \pm 15,4$ años, lo que concuerda con nuestros resultados a partir de ese rango de edad. El hecho de haber observado un aumento de la longitud podría tener relación con la laxitud del párpado superior. En sujetos jóvenes, el tonto palpebral es más fuerte y complica su eversión, exponiendo menos GMs. A medida que aumenta la edad, también aumenta la laxitud del párpado, facilitando su eversión y exponiendo más

GMs. En edades más avanzadas (a partir de los 50 años), se observa el acortamiento de las GMs.

Con respecto a la distancia euclídea entre los extremos, el valor medio fue de 1,8 mm (IC 95%: 1,71 – 1,89). La relación entre la longitud y la distancia euclídea se ha utilizado anteriormente como índice de tortuosidad.^{45,82} Sin embargo, en este estudio se ha observado que los valores medios de la distancia euclídea son muy similares a los de la longitud de las GM y, además, el recorrido de los IR a lo largo de la edad también es similar. Por esta razón, es posible que evaluar la tortuosidad utilizando la relación entre la longitud y la distancia euclídea entre los extremos de la GM no sea un buen indicador de tortuosidad entendida como los cambios de dirección que se producen en el recorrido de una línea recta. De todas formas y hasta donde sabemos, este es el primer estudio en el que se ha evaluado el efecto de la edad en la distancia euclídea entre los extremos de la GM.

Para la anchura, el valor medio fue de 0,3 mm (IC 95%: 0,29 – 0,31). Existen pocos estudios que analicen la anchura de las GM en sujetos sanos. Xiao *et al.*⁵² obtuvieron una anchura media de 0,32 mm para un grado de pérdida bajo; 0,42 mm para un grado de pérdida medio, y 0,35 mm para un grado de pérdida alto. Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio en sujetos sanos. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, los autores no aportaron datos demográficos o clínicos de los sujetos, por lo que es difícil saber si los datos son o no comparables. En el estudio de Llorens-Quintana *et al.*,⁴⁴ la anchura media para el grado más alto de pérdida fue de 0,2 mm, 0,3 mm para el grado medio, y 0,4 mm para el grado más bajo, lo que estaría dentro de los IR del presente estudio. Además, hemos encontrado un

efecto de la edad en la anchura de las GM, con un estrechamiento de los IR a partir de los 65 años. No se han encontrado otros estudios que evalúen la relación entre la anchura de las GM y la edad.

Con respecto al número de GM, el valor medio fue de 16,05 (IC 95%: 15,28 – 16,82) GM. En otros estudios también encontramos cierta variabilidad. En el estudio de Llorens-Quintana *et al.*,⁴⁴ se obtuvo un valor medio de 26 GM para el menor grado de pérdida, 25 y 19 para los grados medios, respectivamente, y 14 GM para el mayor grado de pérdida. Los resultados más similares a los del presente estudio son los de Setu *et al.*,⁸² que obtuvieron una media de $15,32 \pm 3,19$ GM.

En este estudio se ha observado mucha variabilidad en los IR del número de GM, siendo el IR de 8 a 27 GM para todas las edades. Esta variabilidad podría explicar las discrepancias entre estudios mencionadas anteriormente. Sin embargo, en el estudio de Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ se observa cierta variabilidad debido a la inclusión de sujetos con diferente grado de pérdida de GM. El estudio de Setu *et al.*⁸² también estaba formado por sujetos con diferente grado de pérdida. En el presente estudio, el grado de pérdida de GM no fue escogido como criterio de inclusión, por lo que también es posible que la variabilidad en el número de GM se deba a los distintos grados de pérdida de GM de los sujetos incluidos, ya que la calidad de todas las imágenes fue lo suficientemente buena para ser analizadas por el software. Todas las imágenes fueron tomadas por el mismo observador y en las mismas condiciones. No se descartó ninguna imagen que no se pudiera procesar ni se realizó ningún procesamiento especial para alguna de ellas.

El número de segmentos obtenido en este estudio fue de 6,07 (IC 95%: 5,77 – 6,36). La edad y el sexo no tuvieron efecto en esta variable,

de manera que el número de segmentos se mantuvo constante con un IR entre 3 y 9. Esta medida se ha incluido para calcular el índice de tortuosidad. El método desarrollado para analizar las GM utiliza el ajuste de modelos lineales a trozos para identificar y ajustar tantos segmentos de cada GM como cambios de dirección presente la GM.

Con respecto a la tortuosidad, el valor medio obtenido fue de 0,3 (IC 95%: 0,3 – 0,31). Como se ha mencionado en anteriores ocasiones, no existe un consenso a la hora de evaluar la tortuosidad de las GM, e incluso a la hora de proponer una definición. Algunos autores han definido la tortuosidad o distorsión como una inclinación mayor de 45°. En el estudio de Xiao *et al.*⁴⁶ cuantificaron el número de GM distorsionadas según este criterio y obtuvieron una media de $2,7 \pm 1,5$ GM distorsionadas en sujetos controles. En el estudio de Gu *et al.*,³¹⁰ tomaron imágenes de meibografía del párpado superior con el Keratograph 5M en 68 sujetos controles de $23,99 \pm 2,7$ años. Tras analizarlas con *Image J*, obtuvieron una media de $1,59 \pm 1,04$ GM distorsionadas siguiendo el mismo criterio de inclinación mayor de 45°. Arita *et al.*³⁸ evaluaron 47 sujetos controles (media de edad $32,8 \pm 9,5$ años). Tomaron imágenes de meibografía con una cámara acoplada a la lámpara de hendidura y evaluaron la tortuosidad de 0 a 2, siendo 0 = sin distorsión, 1 = de 1 a 4 GM distorsionadas, 2 = 5 o más GM distorsionadas, siendo distorsión una inclinación mayor de 45°. Obtuvieron un valor de $0,11 \pm 0,31$. Sin embargo, y aunque este criterio ha sido ampliamente utilizado, se trata de una valoración subjetiva. Otros autores han incorporado medidas objetivas como la distancia euclídea entre los extremos. Dai *et al.*⁴⁵ utilizaron la relación entre la longitud total y la distancia euclídea entre los extremos, y aplicaron esta medida en el estudio de Lin *et al.*³¹¹ Tomaron imágenes de 38 sujetos controles (media

de edad $25,25 \pm 11,19$ años) con el Keratograph 5M y las analizaron con un método de *deep learning* propio, obteniendo una tortuosidad de $0,2 \pm 0,04$ en el párpado superior. Setu *et al.*⁸² también utilizaron la relación entre la longitud y la distancia euclídea, obteniendo un valor de $1,68 \pm 0,91$. Este valor parece elevado y sugiere que la longitud de las GM es mayor que la distancia euclídea, por lo que puede ser que en las imágenes utilizadas para entrenar el algoritmo haya más presencia de GM curvas. Xiao *et al.*,⁵² calcularon un índice de tortuosidad que además tenía en cuenta el ángulo de las GM, obteniendo valores de 0,09 para sujetos sin grado de pérdida de GM; 0,15 para un grado de pérdida leve; 0,12 para un grado de pérdida moderado y 0,1 para un grado de pérdida severo. Otra definición diferente es la del estudio de Llorens-Quintana *et al.*,⁴⁴ que utilizaron el término ‘irregularidad’ definiendo el área de diferencia con una GM considerada ‘normal’. Definieron una GM como ‘normal’ cuando ésta es larga y fina,³ representaron las coordenadas de esta GM ‘normal’ en un gráfico y compararon el resto de los gráficos de las demás GM con éste. El área de diferencia entre ambos se cuantificaba para dar el valor de irregularidad de la GM. Los resultados que obtuvieron fueron una irregularidad de $21,92 \pm 44,48$ para sujetos sin pérdida de GM; $22,22 \pm 33,44$ para sujetos con pérdida leve, $8,59 \pm 20,77$ para un grado de pérdida moderado y un valor de 0 para un grado de pérdida severo. Estos autores afirman que existe mucha variabilidad en la irregularidad de las GM y que cuanto mayor es el área de pérdida, existe menos probabilidad de que haya GM irregulares.

En este estudio, la edad tuvo influencia en la tortuosidad (obteniendo valores mayores a medida que aumenta la edad, y estrechándose entre los 45 y los 60 años), pero no así el sexo. En los estudios que se han mencionado anteriormente, no se ha estudiado la relación entre la

tortuosidad y la edad. Además, los resultados no son comparables ya que la definición de tortuosidad es diferente en cada uno de ellos y la forma de cuantificarla también. Sin embargo, todos los autores se refieren al mismo concepto y es el cambio en la trayectoria de la GM. La relación de la longitud y la distancia euclídea entre los extremos de la GM podría ser más útil cuando predominan las GM de tipo circular. Sin embargo, el nuevo concepto de tortuosidad planteado en este estudio supone una ventaja con respecto a lo publicado hasta ahora ya que se definía el término ‘tortuosidad’ como la relación entre la longitud de la glándula y la distancia euclídea entre sus extremos que, como se ha mencionado anteriormente, son medidas muy similares cuando no predomina el tipo de GM circular.

Con respecto a la desviación de la vertical, se obtuvo un valor medio de 0,37 (IC 95%: 0,36 – 0,38). Este concepto podría ser similar con el criterio utilizado por algunos autores para referirse a una GM como tortuosa si su inclinación es mayor de 45° ,^{36-39,205} como se acaba de mencionar, pero de manera cuantificada. En el caso concreto de este estudio, una desviación de 0,37 podría corresponderse con una inclinación menor a 45. De esta forma, podría utilizarse esta medida para cuantificar el ángulo de inclinación en los estudios mencionados anteriormente. Esta medida no se vio afectada ni por la edad ni por el sexo, de manera que el IR obtenido para toda la población fue de 0,29 – 0,45.

Con respecto al área global de GM, es decir, la relación entre el área ocupada por las GM y el área total del párpado expresada en porcentaje, el valor medio obtenido fue de 0,14 (IC 95%: 0,14 – 0,15), es decir, un 14%. Estos resultados son muy diferentes a los presentados por otros

autores ya que la metodología utilizada es muy variada. Algunos autores han utilizado el software *Image J* para cuantificar el área de pérdida de GM. Este porcentaje es la relación entre el área total del párpado y el área donde debería haber GM,^{31,34,42,207,312} pero no las hay, como indica la Figura 4.28. Otros estudios han evaluado área de GM de forma objetiva.^{44,311} Xiao *et al.*⁵² cuantificaron de forma objetiva el área ocupada por las GM, es decir, calcularon la relación entre el área total del párpado, y el área ocupada por las GM, según la Figura 4.29. Obtuvieron valores de 39,84% a 19,34% en sujetos que tenían diferentes grados de pérdida de las GM (de menor a mayor grado de pérdida según su propia escala subjetiva).

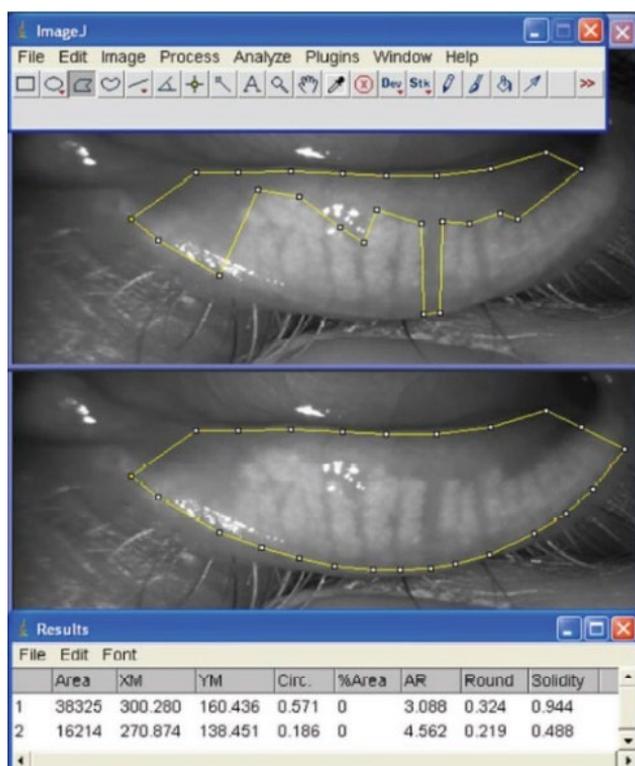


Figura 4.28. Cálculo del área de pérdida de glándulas de Meibomio con *Image J*. En la parte inferior de la imagen se observa el área total del párpado inferior, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 38325. En la parte superior se observa el área donde no aparecen las glándulas, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 16214. Imagen obtenida con permiso de Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci* 2012(5);89:760-9. Número de licencia: 5251250989241.

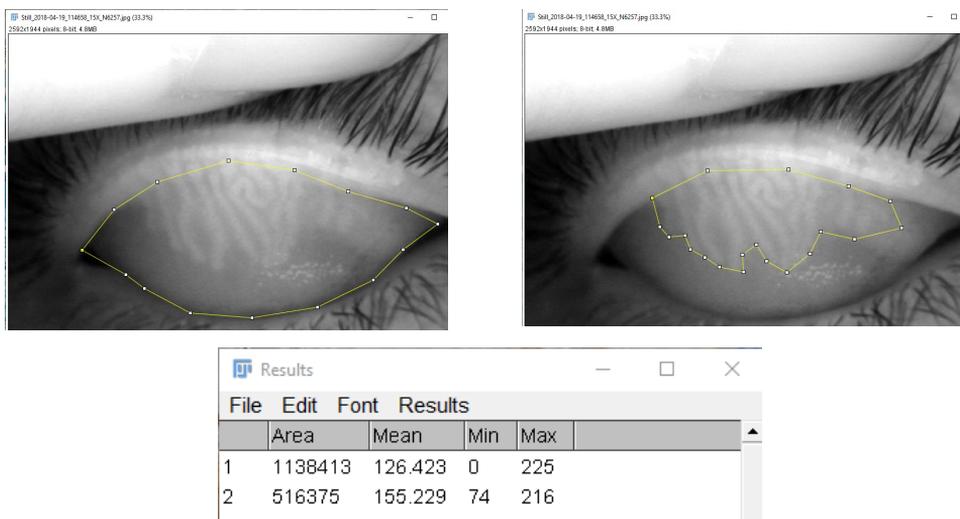


Figura 4.29. Cálculo del área de glándulas de Meibomio con *Image J*. En la parte izquierda de la imagen se observa el área total del párpado inferior, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 1138413. En la parte derecha se observa el área donde aparecen las glándulas de Meibomio, delimitado por la línea amarilla, correspondiente al valor área = 516375. Imagen propia del Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

No se observó influencia en el área de GM global, siendo el IR 0,08 – 0,2; es decir 8 – 20%. Estos resultados contrastan con lo publicado hasta ahora, ya que se ha descrito una relación entre el aumento del grado de pérdida de GM y la edad.²⁹ Sin embargo, en la línea de lo comentado en el párrafo anterior, las diferencias pueden deberse al método de evaluación del área de interés, obteniendo valores muy diferentes dependiendo de si se valora el área de pérdida, el área ocupada por las GM y de si se incluye o no el espacio inter glandular.

Finalmente, para el área de GM en la mitad superior de la imagen del párpado, el valor medio fue de 0,63 (IC 95%: 0,62 – 0,64), es decir, un 63%. Este parámetro indica que de toda el área que ocupan las GM, un 63% se sitúan en la parte superior de la imagen de meibografía (la imagen se toma tras haber evertido el párpado), es decir más cerca del

borde palpebral. Esta variable se vio afectada tanto por la edad como por el sexo. El valor medio de los hombres fue mayor que el de las mujeres (64% frente a 62%), siguiendo un perfil similar en ambos casos con la edad, con una disminución del límite inferior hasta los 55-60 años y un aumento posterior, y en el caso del límite superior se observó un aumento a lo largo de los años estudiados. El obtener un porcentaje mayor al 50% podría indicar un acortamiento de las GM medido de una forma más directa que si se utiliza la longitud de las GM, ya que el porcentaje es una variable relativa que tiene en cuenta el área total del párpado mientras que la longitud es una medida absoluta. De hecho, los estudios en los que se cuantifica el porcentaje de pérdida con *Image J* realmente miden el área hasta donde llegan las GM por lo que quizás sería más adecuado hablar de acortamiento de las GM más que de grado de pérdida, ya que un sujeto con todas las GM acortadas tendría el mismo porcentaje que un sujeto con pérdida de GM en una zona concreta del párpado, como por ejemplo la zona nasal o temporal. Este parámetro podría tener una gran utilidad clínica. Hasta donde sabemos, es la primera vez que se calcula cuantitativamente y de forma objetiva el acortamiento de las GM con la edad. Este acortamiento ha sido publicado tradicionalmente como un aumento en el área de pérdida.^{14,27,29} Además, en este estudio se ha observado que el porcentaje de GM en la parte superior aumenta con la edad y que depende del sexo, por lo que es necesario tener en cuenta estas dos variables demográficas a la hora de evaluar si un acortamiento de las GM está dentro o fuera de lo normal. Aunque el área de exposición del párpado puede sufrir cierta variabilidad debido a la eversión del párpado, cabe destacar que el proceso de análisis de las imágenes es homogéneo, por lo que no añade más variabilidad además de la propia de la técnica de meibografía.

Una de las limitaciones de este estudio es que solo se han evaluado las imágenes del párpado superior. Debido a la dificultad a la hora de tomar meibografías de calidad en el párpado inferior (menor área de evaluación, mayor obtención de imágenes con reflejos especialmente en las zonas nasal y temporal), y que la gran mayoría de los estudios se centran en el párpado superior,^{31,35,44–46,51,52,82,310,313,314} se decidió no incluir la evaluación del párpado inferior en este estudio. Otra limitación es que el software desarrollado es dependiente del instrumento que se ha utilizado para tomar las imágenes (Easy Tear View+) ya que se han ajustado diferentes parámetros para tratar las imágenes obtenidas de este instrumento. Conviene señalar que esta dependencia existe en las primeras fases del proceso de análisis, siendo las etapas de modelización de las GM y cuantificación de sus características válidas para cualquier instrumento que se utilice. Sin embargo, esta puede ser una de las razones de algunas discrepancias halladas entre este estudio y los mencionados anteriormente. La adaptación de esta herramienta automática de análisis a otros meibógrafos es relativamente sencilla. Además, también es posible incorporar medidas que cuantifiquen otras características que pudieran ser interesantes para el diagnóstico y/o evaluación de la morfología de las GM. En esta tesis doctoral se ha realizado el desarrollo del software y actualmente se está perfeccionando y evaluando su aplicabilidad a otro tipo de imágenes procedentes de otros instrumentos. Como parte de la validación de esta herramienta informática, se evaluará el grado de acuerdo entre una clasificación manual y la clasificación automática, en distintos tipos de paciente.

Como conclusión, en este estudio se ha caracterizado por primera vez la morfología de las GM del párpado superior en sujetos sanos en un gran rango de edad, definiendo nuevos parámetros medidos de manera

objetiva y determinando los límites de referencia para cada uno de estos parámetros, incluyendo la influencia de la edad y el sexo. La edad tiene un efecto en la longitud de las GM, la distancia euclídea entre sus extremos, la anchura y la tortuosidad, mientras que tanto la edad como el sexo tuvieron influencia en el área superior de GM. La longitud de las GM y la distancia euclídea entre sus extremos aumenta entre los 25 y los 50 años, mientras que la anchura aumenta a partir de los 65 años. La tortuosidad también aumenta con la edad, aunque su variabilidad disminuye entre los 45 y los 60 años. El área de GM en la parte superior de la imagen del párpado también aumenta con la edad, encontrando valores mayores en hombres que en mujeres. Estos valores pueden ser útiles a la hora de describir los cambios asociados a enfermedades o diferentes alteraciones de la SO.

4.1. Morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco

4.2.1. Introducción

La EOS es una enfermedad de la SO que afecta a entre un 5% y un 50% de la población.⁸⁵ Se puede clasificar en tres tipos: acuodeficiente, evaporativo y mixto. La EOS de tipo acuodeficiente se debe principalmente a la alteración de la glándula lagrimal principal y se caracteriza por un descenso en la producción lagrimal, mientras que el tipo evaporativo se debe principalmente a la alteración de las GM y se caracteriza por un aumento de la evaporación de la PL.⁵⁵ Se categoriza como EOS de tipo mixto cuando están presentes características del tipo hiposecretor y del tipo evaporativo.⁵⁵ Teniendo en cuenta la relación entre las GM y la EOS, el objetivo de la segunda parte de este estudio es evaluar las diferencias clínicas entre sujetos sanos y sujetos con EOS, y aplicar los IR calculados anteriormente para clasificar a sujetos con EOS según la morfología de sus GM.

4.2.2. Material y métodos

4.2.2.1. Sujetos de estudio

Para esta segunda parte del estudio, se reclutaron sujetos voluntarios de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

- Sujetos mayores de 18 años que sean capaces de entender y firmar el consentimiento informado.
- Sujetos con EOS definido como: OSDI \geq 13 y al menos dos de los siguientes test alterados en ambos ojos: TFBUT \leq 7 segundos,²⁹⁸ tinción corneal con fluoresceína \geq 1 en escala Oxford, tinción conjuntival con

verde de lisamina ≥ 1 en escala Oxford, y test de Schirmer ≤ 5 mm en 5 minutos.

Criterios de exclusión

- Alteraciones y/o enfermedades oculares activas tales como: conjuntivitis infecciosa, alergia ocular, inflamación de cámara anterior, enfermedad del segmento anterior que no sea EOS.
- Enfermedades autoinmunes que requieran tratamiento.
- Enfermedades sistémicas, neurológicas y/o dermatológicas con afectación ocular.
- Inicio de uso de medicación sistémica que afecte a la SO en los últimos 3 meses.
- Oclusión de los puntos lagrimales en los últimos 3 meses.
- Uso de LC en los últimos 7 días.
- Uso de medicación tópica ocular y lubricantes oculares en las 24 horas previas a la visita del estudio.
- Mujeres embarazadas o en lactancia.

4.2.2.2. Evaluación clínica

Se realizó un cuestionario de salud general y ocular, y a continuación se realizaron las siguientes pruebas clínicas siguiendo el protocolo indicado en la primera parte del capítulo: OSDI, AV, hiperemias conjuntivales bulbar y tarsal, grado de papilas, TFBUT, tinción corneal con fluoresceína, línea de Marx, tinción conjuntival con verde de lisamina, signos de inflamación del párpado, evaluación de la función de las GM, meibografía y test de Schirmer. La morfología de las GM se evaluó también con el software desarrollado en R descrito anteriormente, ya que el observador no fue enmascarado pero el software, al ser automático, es objetivo.

4.2.2.3. Análisis estadístico

Se escogió uno de los ojos de cada sujeto de manera aleatoria. Se compararon las dos poblaciones (EOS y sanos) utilizando dos aproximaciones. Por una parte, se compararon dos muestras independientes de sujetos. Para esto, y con el fin de evitar sesgos debidos a las diferencias en edad entre los dos grupos, se seleccionó aleatoriamente un subgrupo de sujetos sanos mayores de 45 años. La otra aproximación tiene que ver con los límites de referencia estimados en la sección anterior. Cada sujeto del grupo EOS fue clasificado como normal o no-normal, en base a si los valores en cada una de las características analizadas de la morfología de las GM se encontraban o no dentro del IR correspondiente.

Para las variables cualitativas (sexo), se muestran los porcentajes de cada nivel. Para las variables cuantitativas (edad, OSDI, AV, TFBUT, tinción corneal, línea de Marx, tinción conjuntival, número de glándulas obstruidas, y test de Schirmer) se muestra la media y el IC al 95%, mínimo y máximo. Para las variables ordinales (hiperemia conjuntival bulbar, hiperemia conjuntival tarsal, grado de papilas, expresión y calidad de la secreción de las GM, signos de inflamación del párpado), se muestran la mediana, IQR, mínimo y máximo. Además, se comprobó la normalidad con el test de Shapiro-Wilk para muestras de menos de 50 individuos, y Kolmogorov-Smirnov para muestras de más de 50 individuos.

Diferencias clínicas entre sujetos sanos y sujetos con EOS

Para la comparación de los sujetos sanos y los sujetos con EOS se evaluó, en primer lugar, la diferencia en el sexo con el test Chi cuadrado. Para las variables que cumplían con la distribución normal se utilizó el

test T de Student para muestras independientes, mientras que para el resto de las variables se utilizó el test no paramétrico U de Man Whitney.

Clasificación de los sujetos con EOS según la morfología de las GM aplicando los intervalos de referencia

Para la clasificación de las imágenes de los sujetos con EOS, se utilizaron los IR obtenidos para clasificar la muestra de 39 pacientes con EOS. Se clasificó como 'no-normal' las imágenes con al menos 1 parámetro fuera de los IR calculados, y se compararon las características clínicas entre el grupo de clasificados como 'IR -normal' e 'IR -no normal'. Para comparar los dos grupos, se utilizó el contraste T de Student para dos muestras independientes cuando se cumplieron la hipótesis de normalidad y homogeneidad de varianza. La hipótesis de normalidad se comprobó con el contraste de Shapiro-Wilk y la hipótesis de homogeneidad de varianza se comprobó utilizando el contraste de Levene, y cuando no fue posible asumirla se utilizó el contraste robusto de Welch para la comparación de medias. En el caso de no poder asumir la hipótesis de normalidad, se utilizó la alternativa no paramétrica, el contraste U de Mann-Whitney.

4.2.3. Resultados

4.2.3.2. *Diferencias clínicas entre sujetos sanos y sujetos con EOS*

En el grupo de sujetos sanos, el 50% fueron hombres (n = 38) y el 50% mujeres (n = 38). En el grupo de sujetos con EOS, el 25,64% de los participantes fueron hombres (n = 10) y el 74,36% mujeres (n = 29). Se encontraron diferencias significativas en el sexo (Chi cuadrado = 6,289; p = 0,012). La media de edad de los sujetos sanos fue de 57,63 (IC 95%: 56 – 59,26), rango 46 – 76 años, mientras que la media de edad de los sujetos con EOS fue de 61,56 (IC 95%: 58,2 – 64,92), rango 45 – 89

años. El grupo con EOS tuvo un valor significativamente mayor ($p < 0,001$) en el cuestionario OSDI que el grupo de sujetos sanos: EOS = 32,75 (IC 95%: 26,36 – 39,13), rango 13 – 82,5; sanos = 3,24 (IC 95%: 2,44 – 4,03), rango 0 – 11,36. No se encontraron diferencias significativas en la AV: EOS = 0,04 (IC 95%: (-0,02) – 0,11), rango 0,22 – 1; sanos = 0 (IC 95%: (-0,03) – 0,04), rango (-0,26) – 0,5 unidades LogMAR.

Los valores de las variables clínicas se incluyen en la Tabla 4.22. Con respecto a la hiperemia conjuntival bulbar y tarsal, los valores obtenidos en el grupo de sujetos con EOS fueron significativamente mayores que los de los sujetos sanos ($p = 0,003$ y $p = 0,004$; respectivamente). En el grado de papilas no se encontraron diferencias significativas. El TFBUT fue significativamente menor en el grupo con EOS, mientras que la tinción corneal con fluoresceína fue mayor. Los valores de la línea de Marx también fueron mayores en el grupo con EOS, así como la tinción conjuntival con verde de lisamina (todas $p < 0,001$). El grado de signos de inflamación del párpado también fue mayor en los sujetos con EOS ($p < 0,001$). La función de las GM resultó más alterada en estos sujetos, obteniendo valores mayores de expresión y calidad de la secreción de las GM (ambos 2 frente a 1, $p < 0,001$). También se encontraron diferencias significativas en el número de GM obstruidas en el párpado superior, aunque podría no ser clínicamente relevante ya que la diferencia no llega a una GM obstruida ($p = 0,005$). En el párpado inferior no se encontraron diferencias significativas. Finalmente, no se observaron diferencias significativas en el test de Schirmer.

Tabla 4.22. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para sujetos sanos y con enfermedad de ojo seco.

Variable	Grupo	Media (IC 95%)	Rango	P valor
TFBUT (segundos)	Sanos	9,29 (7,84 – 10,74)	2,33 – 30	< 0,001
	Ojo seco	3,3 (2,87 – 3,73)	1,33 – 7	
Tinción corneal (CCLRU) (0 – 20)	Sanos	0,45 (0,27 – 0,65)	0 – 4	< 0,001
	Ojo seco	3,38 (2,5 – 4,27)	0 – 12	
Línea de Marx (0 – 18)	Sanos	6,24 (5,4 – 7,08)	0 – 15	< 0,001
	Ojo seco	9,26 (8,13 – 10,38)	0 – 15	
Tinción conjuntival (0 – 5)	Sanos	0,68 (0,4 – 0,96)	0 – 4	< 0,001
	Ojo seco	2,33 (1,92 – 2,75)	0 – 5	
Test de Schirmer (mm)	Sanos	13,86 (11,9 – 15,81)	0 – 35	0,101
	Ojo seco	11,74 (8,74 – 14,74)	0 – 35	

Tabla 4.22. Continuación. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para sujetos sanos y con enfermedad de ojo seco.

		Mediana [IQR]		
Hiperemia bulbar (0 – 4)	Sanos	1 [0]	0 – 3	0,003
	Ojo seco	2 [1]	0 – 3	
Hiperemia tarsal (0 – 4)	Sanos	1 [1]	0 – 3	0,004
	Ojo seco	2 [2]	0 – 3	
Papilas (0 – 4)	Sanos	0 [1]	0 – 2	0,344
	Ojo seco	0 [1]	0 – 2	
Tinción corneal (Oxford) (0 – 5)	Sanos	0 [0]	0 – 1	< 0,001
	Ojo seco	1 [1]	0 – 4	
Signos de inflamación (0 – 4)	Sanos	1 [1]	0 – 3	< 0,001
	Ojo seco	2 [0]	0 – 4	
Expresión (0 – 3)	Sanos	1 [1]	0 – 2	< 0,001
	Ojo seco	2 [1]	1 – 3	
Calidad (0 – 3)	Sanos	1 [1]	0 – 2	< 0,001
	Ojo seco	2 [1]	1 – 3	
Número GM de obstruidas PS	Sanos	0 [0]	0	0,005
	Ojo seco	0 [1]	0 – 1	
Número GM de obstruidas PI	Sanos	0 [1]	0 – 1	0,079
	Ojo seco	0 [1]	0 – 1	

IC: intervalo de confianza, TFBUT: tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína, CCLRU: *cornea and Contact Lens Research Unit*, mm: milímetros, IQR: rango intercuartílico, GM: glándulas de Meibomio, PS: párpado superior, PI: párpado inferior.

Finalmente, con respecto a las variables relacionadas con la morfología de las GM, los valores se incluyen en la Tabla 4.23. Los valores de la longitud ($p = 0,023$) y la distancia euclídea ($p = 0,041$) fueron menores en el grupo de sujetos con EOS. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la anchura. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el número de GM. El número de segmentos fue significativamente menor en el grupo de sujetos con EOS ($p = 0,011$). Para las variables tortuosidad, desviación de la vertical, área global y área en la parte superior del párpado, no se encontraron diferencias significativas. Tampoco hubo diferencias significativas en la escala *meiboscale*.

CAPÍTULO 4 CARACTERIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO

Tabla 4.23. Valores de las variables relacionadas con la morfología de las GM para los sujetos sanos y los sujetos con enfermedad de ojo seco.

Variable	Grupo	Media (IC 95%)	Rango	P valor
Longitud (mm)	Sanos	1,95 (1,81 – 2,09)	0,66 – 3,77	0,023
	Ojo seco	1,72 (1,49 – 1,94)	0,63 – 3,55	
Distancia euclídea (mm)	Sanos	1,83 (1,7 – 1,96)	0,67 – 3,44	0,041
	Ojo seco	1,66 (1,43 – 1,89)	0,65 – 3,57	
Anchura (mm)	Sanos	0,3 (0,29 – 0,31)	0,2 – 0,41	0,439
	Ojo seco	0,31 (0,29 – 0,32)	0,21 – 0,43	
Número de GM	Sanos	16,05 (15,04 – 17,06)	7 – 26	0,299
	Ojo seco	15,08 (13,34 – 16,81)	3 – 24	
Número de segmentos	Sanos	6,28 (5,85 – 6,71)	2,71 – 13,38	0,011
	Ojo seco	5,35 (4,76 – 5,94)	2,25 – 9,56	
Tortuosidad (0 – 1)	Sanos	0,31 (0,3 – 0,32)	0,2 – 0,43	0,686
	Ojo seco	0,3 (0,28 – 0,32)	0,12 – 0,39	
Desviación de la vertical (0 – 1)	Sanos	0,37 (0,36 – 0,38)	0,26 – 0,49	0,408
	Ojo seco	0,38 (0,36 – 0,4)	0,27 – 0,5	
Área global (%)	Sanos	14,35 (13,54 – 15,17)	5,42 – 22,08	0,264
	Ojo seco	13,35 (11,74 – 14,95)	4,43 – 24,1	
Área superior (%)	Sanos	63,05 (61,28 – 64,82)	46,39 – 85,68	0,545
	Ojo seco	62,19 (60,23 – 64,14)	43,73 – 74,8	
		Mediana [IQR]	Rango	P valor
Meiboscale (0 – 4)	Sanos	1 [1]	0 – 4	0,835
	Ojo seco	1 [1]	0 – 4	

IC: intervalo de confianza, mm: milímetros, GM: glándulas de Meibomio, IQR: rango intercuartílico.

4.2.3.3. Clasificación de los sujetos con EOS según la morfología de las GM aplicando los IR

Se utilizaron los IR calculados anteriormente en función de la edad y el sexo para clasificar a los individuos pertenecientes a una muestra de 39 sujetos con EOS. Según la clasificación de los IR, el 66,7% (IC 95%: 49,69 – 80,41) de estos sujetos se clasificaron como ‘normales’ (IR-normal) y el 33,3% (IC 95%: 19,59 – 50,31) como ‘no -normales’ (IR-no normal). Una vez realizada esta clasificación, se compararon las variables clínicas del grupo IR-normal con respecto al grupo IR-no normal.

Los valores de las pruebas clínicas para ambos grupos se recogen en la Tabla 4.24. Se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en el valor del OSDI (Figura 4.30), expresión (Figura 4.31) y calidad (Figura 4.32) de la secreción de las GM. No se encontraron diferencias significativas en el resto de las variables analizadas.

Tabla 4.24. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para los grupos con enfermedad de ojo seco IR-normal, IR-no normal.

Variable	Grupo	Media (IC 95%)	Rango	P valor
OSDI (0 - 100)	IR-normal	29,06 (21,18 – 36,93)	12,5 – 82,5	0,034
	IR-no normal	40,14 (28,87 – 51,4)	22,22 – 77,5	
AV (1 – (-0,3))	IR-normal	0,03 ((-0,01) – 0,08)	(-0,2) – 0,2	0,210
	IR-no normal	0,06 ((-0,13) – 0,26)	(-0,2) – 1	
TFBUT (segundos)	IR-normal	3,32 (2,82 – 3,82)	1,33 – 6	0,787
	IR-no normal	3,26 (2,34 – 4,17)	1,67 – 7	
Tinción corneal (CCLRU) (0 – 20)	IR-normal	3,5 (2,22 – 4,78)	0 – 12	0,628
	IR-no normal	3,15 (2,17 – 4,14)	1 – 6	
Línea de Marx (0 – 18)	IR-normal	9,12 (7,73 – 10,5)	2 – 15	0,725
	IR-no normal	9,54 (7,32 – 11,57)	3 – 14	
Tinción conjuntival (0 – 5)	IR-normal	2,46 (2 – 3)	1 – 5	0,391
	IR-no normal	2,08 (1 – 3)	0 - 5	
Test de Schirmer (mm)	IR-normal	11,23 (7,41 – 15,06)	0 – 35	0,540
	IR-no normal	12,77 (7,27 – 18,26)	1 – 30	

Tabla 4.24. Continuación. Valores de las variables evaluadas de la superficie ocular para los grupos con enfermedad de ojo seco IR-normal, IR-no normal.

		Mediana [IQR]		
Hiperemia bulbar (0 – 4)	IR-normal	1,5 [1]	0 – 3	0,947
	IR-no normal	2 [1]	1 – 2	
Hiperemia tarsal (0 – 4)	IR-normal	2 [2]	0 – 3	0,573
	IR-no normal	2 [0]	1 – 3	
Papilas (0 – 4)	IR-normal	0 [1]	0 – 2	0,8791
	IR-no normal	0 [1]	0 – 2	
Tinción corneal (Oxford) (0 – 5)	IR-normal	1 [1]	0 – 2	0,241
	IR-no normal	1 [0]	0 – 3	
Expresión (0 – 3)	IR-normal	2 [1]	1 – 2	0,040
	IR-no normal	2 [0]	1 – 3	
Calidad (0 – 3)	IR-normal	2 [1]	1 – 3	0,052
	IR-no normal	2 [0]	1 – 3	
Número GM de obstruidas PS	IR-normal	0 [0]	0 – 1	0,070
	IR-no normal	0 [0]	0 – 1	
Número GM de obstruidas PI	IR-normal	0 [0]	0 – 1	1
	IR-no normal	0 [0]	0 – 1	

IC: intervalo de confianza, TFBUT: tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína, CCLRU: *cornea and Contact Lens Research Unit*, mm: milímetros, IQR: rango intercuartílico, GM: glándulas de Meibomio, PS: párpado superior, PI: párpado inferior.

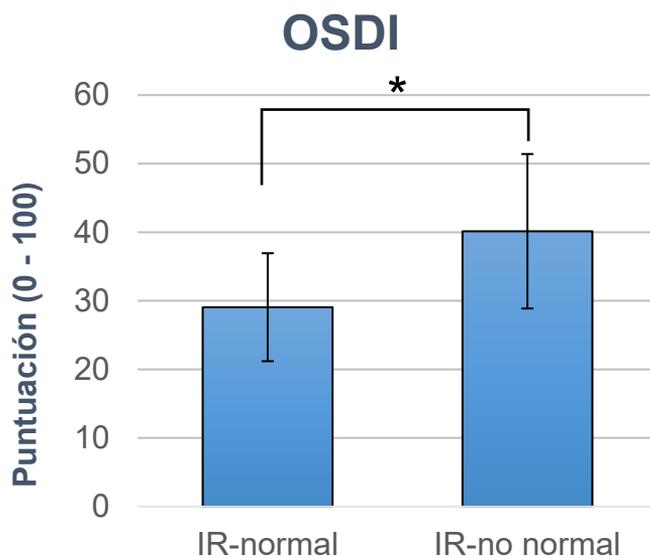


Figura 4.30. Valores de OSDI e intervalo de confianza al 95%. *P = 0,034.

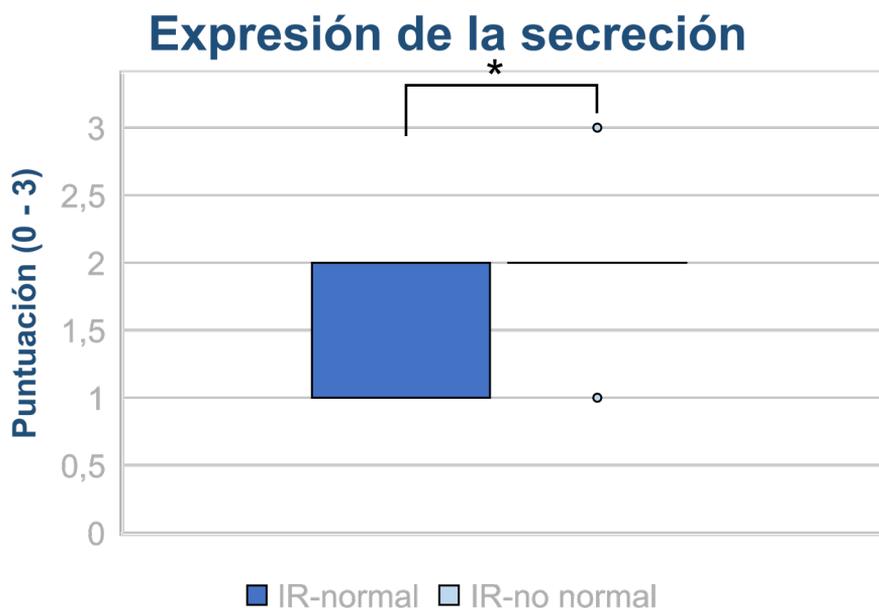


Figura 4.31. Expresión de la secreción de las glándulas de Meibomio. En el grupo de IR-normal, la mediana coincide con uno de los cuartiles y estos cuartiles también coinciden con el mínimo y el máximo. En el grupo IR-no normal, los valores 1 y 3 son valores extremos y los 3 cuartiles coinciden en el valor 2. *P = 0,040.

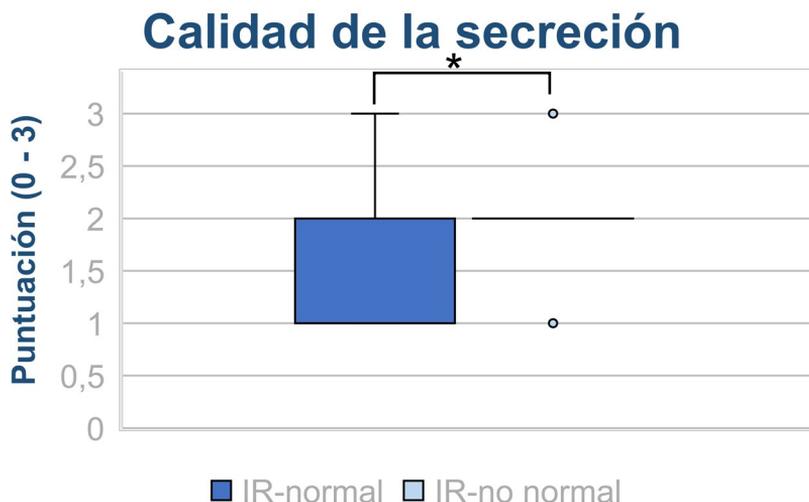


Figura 4.32. Calidad de la secreción de las glándulas de Meibomio En el grupo de IR-normal, la mediana coincide con uno de los cuartiles. En el grupo IR-no normal, los valores 1 y 3 son valores extremos y los 3 cuartiles coinciden en el valor 2. *P = 0,052.

4.2.4. Discusión

Para comparar los resultados obtenidos en la población de sujetos con EOS se utilizó una muestra de sujetos sanos de edad similar ya que la prevalencia de la EOS aumenta con la edad, concretamente se sitúa entre el 38% y el 68% a partir de los 40 años.^{14,85} El objetivo del estudio fue comprobar si existen diferencias entre ambas poblaciones asociadas a alteraciones en la morfología de las GM, eliminando el efecto de la edad. La prevalencia de la EOS es mayor en mujeres (18,7 – 19,4% en mujeres frente 9,8 – 11,5% en hombres),^{315,316} por lo que era esperable que se encontraran diferencias significativas en el sexo.

Con respecto a las diferencias observadas en los síntomas oculares, los sujetos con EOS podrían categorizarse como moderados, de acuerdo

con el cuestionario OSDI, ya que una puntuación entre 23 y 32 se considera moderada, siendo severa a partir de 33.³⁰⁰

Con respecto a la SO, se observó un mayor grado de hiperemia, tanto bulbar como tarsal, en los sujetos con EOS (grado 2 en sujetos con EOS frente a 1 en los sujetos sanos). En este estudio, los valores de hiperemia conjuntival obtenidos fueron más elevados que en otros estudios. Cuevas *et al.*,³¹⁷ obtuvieron una media de $1,57 \pm 0,59$ en el peor ojo y $1,52 \pm 0,59$ en el mejor ojo, evaluado con la misma escala, en 21 sujetos con EOS. La media de edad de Cuevas *et al.*³¹⁷ fue más joven que la del presente estudio ($56,7 \pm 12,3$ años frente a $61,56 \pm 10,37$ años). Tesón *et al.*,⁷⁸ también obtuvieron una media de hiperemia conjuntival menor ($0,93 \pm 0,14$ escala Efron) en un grupo de 20 sujetos con EOS con una media de edad más similar ($64,7 \pm 1,8$ años). Llorens-Quintana *et al.*,³¹³ evaluaron la hiperemia conjuntival de forma automática con el Keratograph 5M en 150 sujetos con y sin síntomas de sequedad ocular (media de OSDI = $16,7 \pm 15$; rango 2,1 – 75), con una media de edad de 42 ± 17 años. Obtuvieron un valor medio de hiperemia de $1,11 \pm 0,5$, aunque el rango varió de 0 a 3,33. Sin embargo, López-Miguel *et al.*⁷⁶ no encontraron diferencias en el grado de hiperemia conjuntival medida con la escala Efron, en 19 sujetos con EOS ($1,25 \pm 0,1$) frente a 20 sujetos controles ($1,07 \pm 0,09$), con una media de edad similar a la del presente estudio (media de edad de sujetos con EOS = $64,2 \pm 1,9$ años y media de edad de sujetos controles = $59,3 \pm 1,9$ años). Las diferencias obtenidas entre los sujetos con EOS y los sujetos sanos podrían deberse al contexto inflamatorio de la EOS, ya que la hiperemia conjuntival es un signo que indica la inflamación de este tejido.¹⁹³

Sin embargo, en el grado de papilas, que también tienen relación con la inflamación, no se encontraron diferencias significativas. Aunque también se ha descrito la presencia de papilas en EOS,³¹⁸ es más frecuente encontrarlas en sujetos con alergia ocular³¹⁹ o en usuarios de LC.³²⁰

En relación con la PL, se observó un menor TFBUT en los sujetos con EOS, lo que era esperable ya que se utilizó como uno de los criterios de inclusión. Sin embargo, cabe destacar que el TFBUT de los sujetos sanos no fue mucho mayor que el criterio de inclusión fijado en 7 segundos. El criterio de corte del TFBUT ha ido disminuyendo recientemente, de 10 segundos en 1973,³²¹ hasta los 7²⁹⁸ o 5 segundos utilizados en algunos estudios actuales.^{198,322} La diferencia en el TFBUT entre sujetos con EOS y sujetos controles ha sido ampliamente descrita, encontrando valores por debajo de los 5 segundos en los sujetos con EOS, en diferentes estudios con distintos grupos de edad.^{34,46,184,311,323,324} Sin embargo, en todos estos estudios también se observan valores medios de TFBUT más bajos del criterio de corte establecido inicialmente como 10 segundos. En esta línea, López-Miguel *et al.*⁷⁶ no encontraron diferencias significativas entre los sujetos con EOS y los sujetos controles, obteniendo valores de TFBUT más bajos ($2,81 \pm 0,24$ segundos para los sujetos controles y $2,78 \pm 0,56$ segundos para los sujetos con EOS), y Chen *et al.*³¹² obtuvieron una media de 7,5 segundos en 117 sujetos controles mayores de 65 años. La medida de la estabilidad lagrimal es muy variable, como se puede observar en los resultados de los estudios mencionados.

La integridad de la SO de los sujetos con EOS estaba más comprometida que la de los sujetos sanos, de acuerdo con los resultados

de las tinciones vitales. Por un lado, la tinción corneal con fluoresceína medida con la escala Oxford fue mayor en sujetos con EOS. Este resultado era esperable ya que fue utilizado como criterio de inclusión, y se encuentra en línea con otros estudios como el de Llorens-Quintana *et al.*,³¹³ que también obtuvo una media de 1 en la escala Oxford, aunque estos autores incluyeron tanto sujetos sintomáticos como asintomáticos, por lo que el rango obtenido fue amplio, de 0 a 3. Cuevas *et al.*³¹⁷ obtuvieron valores menores con la misma escala: $0,74 \pm 1,7$ en el peor ojo y $0,76 \pm 1,71$ en el mejor ojo. Tesón *et al.*⁷⁸ observaron valores incluso menores también con la escala Oxford ($0,33 \pm 0,13$). Estos resultados podrían evidenciar la gran variedad de la escala Oxford para evaluar la tinción corneal. Sin embargo, en el presente estudio, al evaluar esta tinción con una escala más detallada como la CCLRU, observamos una diferencia mayor entre poblaciones (0,45 frente 3,38), este resultado puede ser debido a que la escala CCLRU es más fina, evaluando de forma separada cada una de las áreas de la córnea para luego dar una puntuación global, mientras que la escala de Oxford valora toda la córnea de forma conjunta. De hecho, se han publicado resultados contradictorios en la tinción corneal con la escala Oxford. Eom *et al.*³²³ encontraron también un mayor grado de tinción corneal con la escala Oxford en sujetos con DGM frente a sujetos controles (0,4 frente a 0; $p = 0,001$). Sin embargo, Adil *et al.*³⁴ no encontraron diferencias significativas entre los sujetos con DGM y los controles ($1,6 \pm 2$ frente a $1 \pm 0,7$; $p = 0,673$), también evaluado con la escala Oxford. Xiao *et al.*⁴⁶ no obtuvieron diferencias significativas entre los sujetos controles ($0,9 \pm 0,6$) y los sujetos con DGM hipersecretora ($1,12 \pm 1,4$; $p = 0,71$), hiposecretora ($2 \pm 2,2$; $p = 0,06$) y obstructiva ($1,8 \pm 2,1$; $p = 0,28$). Tampoco encontraron diferencias significativas López-Miguel *et al.*⁷⁶ entre los sujetos controles

($0,5 \pm 0,15$) y los sujetos con EOS ($0,68 \pm 0,15$). Estos resultados podrían indicar que el uso de una escala más fina para la tinción corneal podría discriminar mejor entre sujetos con y sin EOS leve-moderado, mientras que escalas más gruesas como la Oxford permitirían detectar casos de EOS más severos.

El desplazamiento de la línea de Marx también fue mayor en el grupo de sujetos con EOS. Esta línea puede sufrir un desplazamiento hacia los orificios de las GM en el proceso de conjuntivalización del borde palpebral.³²⁵ Yamaguchi *et al.*³⁰⁴ observaron un mayor desplazamiento con la edad y en sujetos con DGM, y este criterio se utiliza actualmente para definir la presencia de DGM.²³ Sin embargo, la mayoría de los estudios lo califican como presencia o ausencia de desplazamiento en la línea de Marx, sin utilizar la escala de Yamaguchi *et al.*³⁰⁴

En el caso de la tinción conjuntival, la diferencia entre grupos también fue notable (sanos = $0,68$ frente a EOS = $2,33$). Los valores del presente estudio fueron más elevados que los observados por otros autores que utilizaron también la escala Oxford, aunque también pueden deberse a diferencias en el volumen de suero utilizado o en el tiempo de observación. Cuevas *et al.*,³¹⁷ obtuvieron valores de tinción conjuntival de $1,22 \pm 1,45$ en el peor ojo y $1,65 \pm 1,52$ en el mejor, aunque utilizaron rosa de bengala en lugar de verde de lisamina. Sin embargo, también encontramos diferencias con otros estudios que sí utilizaron verde de lisamina. Llorens-Quintana *et al.*³¹³ obtuvieron un valor de tinción conjuntival de 1, aunque el rango fue 0 – 4, debido a la inclusión de sujetos con y sin EOS. Tesón *et al.*⁷⁸ también obtuvieron un menor valor en su muestra de EOS ($0,63 \pm 0,18$) con respecto a los resultados de este estudio. Los valores del estudio de López-Miguel *et al.*⁷⁶ también

fueron menores, aunque observaron diferencias significativas entre los sujetos controles y los sujetos con EOS ($0,48 \pm 0,14$ frente a $0,84 \pm 0,13$; $p < 0,05$). La existencia de tinción en la SO es indicativa de inflamación y tiene una mayor correlación con la severidad del ojo seco en casos moderados y severos, como es la población utilizada en el presente estudio.^{193,326}

Los signos de inflamación del párpado fueron significativamente mayores en el grupo con EOS. Yun *et al.*³²⁷ observaron un valor similar de signos de inflamación del párpado en 90 sujetos con DGM ($1,96 \pm 0,62$; media de edad = $54,67 \pm 13,62$ años). Arita *et al.*¹⁸⁴ también observaron un valor mayor en 53 sujetos con DGM obstructiva (media de edad = $71,4 \pm 10$ años) que en 60 controles (media de edad = $71 \pm 9,3$ años), siendo los valores $2,62 \pm 1,08$ frente a $0,55 \pm 0,70$ ($p < 0,0001$). Lin *et al.*³¹¹ obtuvieron también un grado mayor de signos de inflamación en sujetos con DGM que en sujetos control ($2,59 \pm 1,5$ frente a $0,46 \pm 0,74$; $p < 0,001$). Gulmez *et al.*³²⁸ encontraron también un grado mayor en 86 sujetos con DGM frente a 44 sujetos sanos (grado 2 frente a grado 0, $p < 0,001$). Por último, Yu *et al.*³²⁹ también encontraron un valor significativamente mayor (2 frente a 1, $p < 0,001$) en 49 sujetos con DGM (40 años de media) que en un grupo de controles, aunque cabe destacar que el grupo de controles era más joven (25 años de media).

Respecto a la función de las GM, los valores de expresión y calidad de la secreción de las glándulas fueron mayores en el grupo con EOS. Este resultado está dentro de lo esperado ya que, para los sujetos sanos, la DGM fue un criterio de exclusión. Estos resultados están en línea con otros estudios que han observado un valor cercano a 2 en la expresión y calidad de la secreción de las GM. Arita *et al.*¹⁸⁴ obtuvieron un valor de

1,87 ± 1 frente a 0,72 ± 0,72 de los controles, $p < 0,001$. Adil *et al.*³⁴ obtuvieron una peor expresión de la secreción de las GM en los sujetos con DGM frente a los sujetos controles (1,2 ± 0,9 frente a 0,8 ± 0,8; $p = 0,002$). Evaluaron la calidad de 0 a 3 en cada una de las 8 GM centrales del párpado inferior y obtuvieron una peor calidad en los sujetos con DGM (9,3 ± 4,9 frente a 4 ± 0,2; $p < 0,001$). Xiao *et al.*⁴⁶ utilizaron el mismo criterio y encontraron una peor expresión de la secreción en sujetos con diferentes tipos de DGM (hipersecretora = 0; hiposecretora 2,1 ± 0,7; y obstructiva = 1,7 ± 0,6; todas $p < 0,001$) frente a los sujetos controles (0,8 ± 0,8), y una peor calidad también (hipersecretora = 8,1 ± 4,1; $p < 0,001$; hiposecretora = 2,6 ± 1,6; $p = 0,19$; y obstructiva = 10,6 ± 4,4; $p < 0,001$; controles = 0,03 ± 0,2). Lee *et al.*³³⁰ evaluaron a 58 sujetos con EOS (media de edad de 63,2 ± 9,4 años) y obtuvieron un valor de 2,53 ± 0,54. Por último, Fukuoka *et al.*³³¹ obtuvieron un valor medio de 2,4 en 54 sujetos con EOS (media de edad = 49,2 ± 11,8) también antes del tratamiento con luz pulsada. Aunque en este estudio en la muestra de sujetos con EOS no se hizo distinción entre evaporativo, acuodeficiente o mixto, estos resultados podrían indicar un mayor componente evaporativo ya que la función de las GM estaba alterada con respecto a los sujetos sanos.

Además de la función, aunque se observaron diferencias significativas en el número de GM obstruidas, no es clínicamente relevante ya que la diferencia entre los grupos es muy pequeña.

Finalmente, el hecho de no observar diferencias significativas en el test de Schirmer podría sugerir que los sujetos seleccionados sufrían EOS con mayor componente evaporativo, por lo que la producción lagrimal se encuentra dentro de los valores normales. Algunos autores

han descrito valores elevados del test de Schirmer en sujetos con EOS. Cuevas *et al.*³¹⁷ obtuvieron valores más altos: $17,09 \pm 8,78$ mm en el peor ojo y $16,96 \pm 8,54$ mm en el mejor ojo. Tesón *et al.*⁷⁸ también obtuvieron valores algo más elevados ($14,5 \pm 1,94$ mm). Mientras que otros autores obtuvieron valores similares. Por ejemplo, Eom *et al.*³²³ obtuvieron valores de 12,8 mm para los sujetos controles y 10,9 mm en los sujetos con DGM obstructiva. Adil *et al.*³⁴ tampoco encontraron diferencias significativas entre sujetos con DGM y sujetos controles ($14,4 \pm 10$ mm frente a $16,5 \pm 11,9$; $p = 0,4$), al igual que Arita *et al.*,¹⁸⁴ con valores de $12,3 \pm 7,5$ mm para sujetos con DGM y $10,3 \pm 5,3$ mm para los sujetos controles ($p = 0,173$); y López-Miguel *et al.*,⁷⁶ con valores para los sujetos de controles $14,3 \pm 2,07$ mm y $10,47 \pm 2,05$ mm para sujetos con EOS.

En las variables relacionadas con la morfología de las GM, se han observado pocas diferencias significativas entre los grupos. Con respecto a la longitud, los valores fueron menores en el grupo con EOS que en el grupo de sujetos sanos, aunque se desconoce si esta diferencia es clínicamente relevante ya que en este trabajo se han incluido los cambios descriptivos. Estos resultados podrían estar relacionados con un acortamiento en las GM, como ha sido publicado anteriormente.^{30,39,206} Xiao *et al.*⁵² obtuvieron valores mayores, desde $2,62 \pm 0,76$ mm para un grado de pérdida de GM severo, hasta $5,62 \pm 1,25$ mm para un grado de pérdida leve. Estos valores son más altos que los obtenidos en este estudio, pero, como se ha mencionado en la primera parte de este capítulo, en el estudio de Xiao *et al.*⁵² solo se incluyeron 15 imágenes de meibografía, por lo que sería necesario una muestra más grande para confirmar esos datos. Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ obtuvieron valores de entre 1,3 mm y 2,9 mm para un grado severo de pérdida de GM y un

grado leve, respectivamente, valores más similares a los del presente estudio.

La distancia euclídea entre los extremos de la GM también fue menor en el grupo con EOS. Como se ha mencionado en la primera parte de este capítulo, la longitud y la distancia euclídea son medidas muy similares por lo que las diferencias entre los grupos también lo son. Esta medida se ha utilizado en otros estudios para calcular la tortuosidad. Sin embargo, como se ha mencionado en la primera parte del capítulo, es difícil comparar los resultados obtenidos ya que otros autores, aunque utilizan esta medida, no siempre aportan los datos numéricos.^{45,82}

Con respecto a la anchura, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Hasta donde sabemos, solo hay dos estudios que evalúen la anchura de las GM en mm. El estudio de Xiao *et al.*⁵² obtuvo valores de entre 0,32 mm y 0,35 mm para un grado de pérdida severo y leve, respectivamente, aunque de nuevo es preciso indicar que solo analizó 15 imágenes. Por otro lado, Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ obtuvieron valores más similares a los del presente estudio, de 0,2 mm a 0,4 mm de mayor a menor grado de pérdida de GM. Por lo tanto, hasta donde sabemos, este sería el primer estudio que compara la anchura en mm de las GM entre sujetos sanos y sujetos con EOS, sin encontrar diferencias entre ellos.

Tampoco hubo diferencias en el número de GM. Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ encontraron un menor número de GM a medida que aumentaba el grado de pérdida de GM. Como se ha mencionado en la primera parte del capítulo, existe una gran variación entre individuos en el número de GM del párpado superior, por lo que estas diferencias podrían deberse a dicha variabilidad.

Sí que se observó un menor número de segmentos en los sujetos con EOS. Al haber observado una longitud menor en los sujetos con EOS, desde nuestro punto de vista parece menos probable que las GM tengan más cambios de dirección al ser más cortas. Ambas medidas se relacionan a la hora de calcular el índice de tortuosidad y un hallazgo interesante de este estudio es que la tortuosidad fue similar en ambos grupos. Se han encontrado diferentes resultados en estudios previos, debido principalmente a la falta de consenso a la hora de definir y medir la tortuosidad. Xiao *et al.*⁴⁶ observaron que el número de GM tortuosas era significativamente mayor en los sujetos controles ($2,7 \pm 1,5$) que en los sujetos con diferentes tipos de DGM (hipersecretora $1,2 \pm 1,3$; hiposecretora $0,8 \pm 1,3$; y obstructiva $0,9 \pm 1,3$; todas $p < 0,001$). Es probable que este resultado se deba a que la longitud de las GM fue mayor en los sujetos controles, por lo que existe más probabilidad de que haya tortuosidad. Llorens-Quintana *et al.*⁴⁴ también observaron una irregularidad mayor cuando el grado de pérdida de GM era menor (irregularidad = 21,92 para grado de pérdida 0, e irregularidad = 0 para grado de pérdida 3). Xiao *et al.*⁵² obtuvieron índices de tortuosidad de 0,18 a 0,30 para diferentes grados de pérdida de GM. Dai *et al.*⁴⁵ encontraron una correlación moderada y significativa ($Rho = -0,383$, $p < 0,005$) entre la expresión de la secreción de las GM y la tortuosidad, pero no encontraron relación con el resto de los signos o síntomas y no especificaron los valores cuantitativos de la tortuosidad. Lin *et al.*³¹¹ observaron una mayor tortuosidad en los sujetos con DGM que en los sujetos control ($0,13 \pm 0,04$ frente a $0,09 \pm 0,02$; $p < 0,001$). Fatima *et al.*³³² utilizando una escala de 0 (ninguna GM tortuosa) a 2 (más de 5 GM tortuosas),³⁸ no encontraron diferencias significativas entre un grupo de sujetos con EOS preclínico y un grupo de sujetos control (diferencia = -

1,1; $p = 0,27$). Hasta el momento, la tortuosidad ha sido definida como un ángulo mayor de 45° ,^{36,37,46} o cuantificada como la relación entre la longitud y la distancia euclídea entre los dos extremos de la GM.^{45,82} Como se ha mencionado anteriormente, este término no identifica las formas en zigzag como tortuosas. Es por ello por lo que se definió un nuevo índice de tortuosidad que identifica segmentos y tiene en cuenta el ángulo entre ellos. Utilizando esta medida objetiva más cercana a la característica real de 'tortuoso', no se han observado diferencias en la tortuosidad de las GM entre sujetos con EOS y sujetos sanos.

Con respecto a la desviación de la vertical, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Como se ha mencionado en la primera parte del capítulo, esta medida podría utilizarse para cuantificar el ángulo de inclinación en el que se basan otros estudios para definir una GM como tortuosa.^{36,37,46} Sin embargo, al no obtener diferencias significativas entre los grupos, no se podría asegurar que esta medida pueda utilizarse para distinguir a un sujeto sano de un sujeto con EOS.

En el porcentaje de área global tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Respecto al área superior, en el caso de los sujetos sanos, el 63,05% del área de GM se situó en la parte superior de la imagen del párpado (parte más cercana al borde libre del párpado), y en el caso de los sujetos con EOS el porcentaje fue de 62,19%. Los porcentajes fueron muy similares por lo que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Algunos autores sí que encontraron diferencias en el área de pérdida de sujetos con EOS frente a sujetos controles. Por ejemplo, Pult *et al.*³³³ encontraron un mayor porcentaje de pérdida de GM en sujetos con EOS que en sujetos controles ($45,2 \pm 18,8\%$ frente a $30,7 \pm 17,5\%$; $p < 0,001$), cuantificado

con un software semiautomático. En este estudio, la media de edad de todos los participantes fue de $62,8 \pm 17,5$ años. Srinivasan *et al.*⁴² obtuvieron un 32% de pérdida en sujetos con DGM (media de edad = $57,4 \pm 8,7$ años) frente al 6% de los controles (media de edad = $57,2 \pm 6,2$ años) cuantificado con *Image J* ($p = 0,001$). Fatima *et al.*³³² también cuantificaron el área de pérdida con *Image J*, pero no encontraron diferencias significativas entre los sujetos con EOS preclínico y los sujetos controles (diferencia = $-0,43$; $p = 0,66$). Otros autores como Xiao *et al.*⁴⁶ obtuvieron una densidad de GM, es decir, sin tener en cuenta el espacio inter glandular, menor en sujetos con DGM hiposecretora frente a los sujetos controles ($14,8 \pm 3$ frente a $20,2 \pm 16,3$; $p < 0,001$). Sin embargo, no encontraron diferencias con sujetos con DGM hipersecretora ($15,7 \pm 2,7$) y DGM obstructiva ($15,4 \pm 3,1$). En el caso de los dos estudios anteriores, los grupos tenían una edad similar a las del presente estudio, por lo que las diferencias en los resultados podrían deberse a que la cuantificación del área de pérdida o de GM con *Image J* es más subjetiva.

Por todo ello, se podría decir que la longitud de las GM disminuye en pacientes con EOS, pero esta disminución no es lo suficientemente relevante, al menos con los datos obtenidos de la muestra de este estudio, como para afectar al grado de pérdida de GM cuando se comparan sujetos de edades similares. Es posible que los cambios morfológicos de las GM se deban en mayor parte a la edad que al estado de las GM en un contexto de EOS.³³⁴ Chen *et al.*³¹² tampoco encontraron diferencias significativas en sujetos mayores de 65 años con y sin EOS, aunque la evaluación de las imágenes fue subjetiva de acuerdo con la escala de imágenes desarrollada por Daniel *et al.*²⁰⁶ Este aspecto es

importante ya que a la hora de evaluar si la morfología de las GM está o no alterada, hay que tener en cuenta la edad del sujeto.

Como conclusión, se ha observado que los sujetos con EOS tienen un mayor grado de signos relacionados con la inflamación y su SO está más comprometida que la de los sujetos sanos. Con respecto al estado de las GM, se ha observado una alteración de todas las variables relacionadas con la función, pero no con la morfología, ya que solamente se ha observado una menor longitud de las GM del párpado superior. Por todo ello, es necesario evaluar la morfología de las GM junto con la función para determinar la existencia o no de DGM. En un estudio futuro se podrían analizar las mínimas diferencias clínicamente significativas de los parámetros calculados.

En la parte final de este estudio se han utilizado los IR para la morfología de las GM con una muestra de 39 sujetos con EOS. Con los parámetros utilizados y los IR calculados, el 66% de los sujetos con EOS tienen una morfología de las GM del párpado superior dentro de los límites normales, aunque su función se encuentre alterada en comparación con sujetos sanos.

Una posible explicación de estos resultados puede deberse a la falta de correlación entre la morfología y la función de las GM. Por ejemplo, Daniel *et al.*²⁰⁶ encontraron que algunas de las formas de las GM descritas por ellos mismos anteriormente tenían relación con la estabilidad lagrimal, como el número de GM tortuosas en el párpado superior, que aumentaba con el TFBUT. Pero no encontraron relación con los síntomas o la tinción conjuntival. Sin embargo, Crespo-Treviño *et al.*³³⁵ utilizaron la misma escala y no encontraron diferencias en la frecuencia de alteraciones morfológicas de las GM entre sujetos sanos y

sujetos con EOS (92,9% frente a 87,9%; $p = 0,69$). Otros autores encontraron relación entre el grado de pérdida de GM y la estabilidad lagrimal, la tinción corneal y la expresión de las GM, pero no con los síntomas.^{34,324} Adil *et al.*³⁴ encontraron una correlación débil, pero significativa entre el grado de pérdida de GM del párpado superior y la tinción corneal ($Rho = 0,1$; $p < 0,001$), y la expresión de la secreción de las GM ($Rho = 0,29$; $p < 0,001$). También encontraron una correlación inversa con el TFBUT ($Rho = - 0,122$; $p < 0,001$). Giannaccare *et al.*³²⁴ encontraron una correlación entre el grado de pérdida de GM y el OSDI ($R = 0,187$; $p = 0,004$). En el campo de las LC, Blanco-Vázquez *et al.*³³⁶ encontraron una correlación moderada pero significativa ($Rho = 0,47$; $p = 0,003$) entre el número de GM y los síntomas de incomodidad con LC. Pero no encontraron relación entre el número de GM parciales, el porcentaje de pérdida o el porcentaje de GM tortuosas. Kim *et al.*³³⁷ sugirieron que el origen de estas discrepancias entre función y morfología podría deberse a las diferentes fases de la DGM. Es decir, en una fase temprana de DGM donde los orificios están obstruidos pero la estructura de la GM se mantiene, la función se verá alterada pero no así la morfología. Sin embargo, si la GM está atrofiada, tanto la morfología como la función se verán alteradas.³³⁷ Los resultados de este estudio podrían demostrar la teoría de Kim, ya que los sujetos con EOS tienen alterada la función de las GM con respecto a los sujetos sanos pero la morfología de las GM entra dentro de los IR para un 66% de ellos.

Una vez que se clasificaron los sujetos con EOS como normales y no -normales en relación con la morfología de las GM, se observó que el grupo clasificado como no -normal tenía un mayor grado de síntomas y una peor expresión y calidad de la secreción de las GM. Estos resultados podrían estar indicando dos aspectos importantes. Por un lado, que las

alteraciones en la morfología de las GM se producen en casos severos de DGM y, por tanto, podrían ser útiles para detectar estos casos, pero no para casos leves y moderados. En este aspecto, los resultados obtenidos están en línea con otros estudios que afirman que el grado de pérdida de GM está relacionado con la severidad de la DGM.^{23,52,338,339} Por otro lado, que la alteración de la función de las GM se produce antes que la alteración en la morfología.^{3,67,108,340} Incluso se han observado alteraciones en la expresión de las GM con una morfología no alterada.³⁴¹ Algunos autores sostienen que, en primer lugar se produce un aumento de la viscosidad del meibum,^{342,343} que deriva en la obstrucción de los orificios,^{106,344} produciendo finalmente la atrofia y pérdida de las GM.²⁹

Finalmente, el hecho de que no se hayan encontrado diferencias significativas en el resto de las pruebas clínicas podría deberse a la falta de correlación entre signos y síntomas en la EOS y la DGM.^{23,193} Algunos autores sí han encontrado relación entre los síntomas oculares, los signos de la SO, la morfología y la función de las GM, pero otros no. Por ejemplo, en el estudio de Eom *et al.*,³⁴⁰ el área de pérdida de GM tenía relación con la expresión de la secreción de las GM ($R = 0,451$; $p = 0,021$), pero no con la tinción corneal y la estabilidad lagrimal, mientras que la expresión sí tenía relación con estas dos variables ($R = 0,422$; $p = 0,032$ para la tinción corneal y $R = -0,459$; $p = 0,018$ para el TFBUT). En otro estudio del mismo grupo,³²³ solo encontraron correlaciones significativas entre el área de pérdida de GM del párpado superior con el espesor de capa lipídica en sujetos con DGM ($R = -0,375$; $p = 0,041$). Sin embargo, no encontraron asociación con el TFBUT ni el test de Schirmer. Bilkhu *et al.*²¹³ encontraron relación entre la función de las GM y la longitud ($r = -0,507$, $p < 0,001$) y la tortuosidad ($r = -0,129$, $p < 0,001$), aunque no con la anchura ($r = -0,090$, $p = 0,167$). Finis *et al.*³⁴¹

encontraron una correlación significativa del grado de atrofia de las GM con la expresión de la secreción ($R = 0,197$; $p = 0,003$), y con el TFBUT ($R = 0,1615$; $p = 0,012$); y Ji *et al.*³⁴⁵ encontraron una correlación significativa entre el área de pérdida de GM y el cuestionario OSDI ($R = 0,201$; $p = 0,023$).

Estas discrepancias hacen que sea difícil definir cuál es el mejor test clínico para detectar la DGM. De hecho, los resultados obtenidos en este estudio y los mencionados por otros autores sugieren que no es posible elegir un único test, si no que el mejor diagnóstico debe realizarse con un conjunto de pruebas. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, sugerimos que, además de evaluar la morfología de las GM, es imprescindible evaluar los síntomas y la función de las GM para diagnosticar los casos más leves de DGM. Como parece que no existe una clara relación entre signos y síntomas, los resultados de este estudio sugieren que precisamente la morfología de las GM en el párpado superior tiene más efecto en los síntomas que en los signos. Esto podría indicar que, ante dos sujetos con EOS de igual severidad al evaluar solo los signos oculares, la severidad subjetiva puede no ser la misma. En este aspecto, la evaluación de la morfología de las GM podría aportar más información, indicando si se encuentra dentro o fuera del IR y permitiría detectar casos con una peor función de las GM y un mayor grado de síntomas cuando los signos oculares son iguales.

Una de las limitaciones de este estudio es que la morfología de las GM solo ha sido evaluada en el párpado superior. En el campo del procesamiento de imágenes, el párpado inferior presenta más dificultades debido a su reducido tamaño. Si bien es cierto que la mayoría de los estudios se centran en el párpado superior, también sería

necesario incluir la evaluación tanto de la morfología como de la función del párpado inferior. Otra limitación de este estudio es que la muestra de sujetos con EOS no ha sido clasificada como evaporativo, acuodeficiente o mixto con el fin de mantener un tamaño muestral más elevado. Aunque los resultados obtenidos podrían indicar que en esta muestra existe un componente mayoritariamente evaporativo, por lo que en el futuro habría que ampliar el estudio a otros tipos de EOS.

CAPÍTULO 5: EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS EN LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO

5.1. Introducción

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una enfermedad de origen inmunológico y constituye de las principales complicaciones del trasplante de células hematopoyéticas.⁶² Esta terapia es utilizada en alteraciones de la función de la médula ósea y enfermedades neoplásicas (tumores malignos).⁶³ Puede afectar a diferentes órganos como la piel, el sistema gastro-intestinal, el hígado, los pulmones, el esófago y las mucosas orales y oculares,²²⁴ provocando inflamación y fibrosis de estos tejidos y dando lugar a un fallo orgánico,²²⁵ y es la primera causa de muerte en estos sujetos trasplantados.²³⁰

Para que el injerto de células madre hematopoyéticas del donante tenga éxito, es necesario someter al paciente a un régimen de acondicionamiento en el que se prescriben una serie de tratamientos de quimioterapia, radioterapia y/o terapia anti supresora con el objetivo eliminar la inmunidad del huésped, preparando así la médula ósea para las nuevas células y además erradicar las células tumorales.^{89,90}

La prevalencia de la afectación ocular oscila entre un 30% y un 60% en pacientes trasplantados, y entre un 60% y 90% en pacientes con EICH agudo o crónico.^{231,232} Afecta a diferentes estructuras oculares como las glándulas lagrimales, la conjuntiva, la córnea y las GM,^{64,233} y se producen tres procesos principales: disfunción de la glándula lagrimal principal, inflamación corneo-conjuntival y DGM,^{57,234} siendo la EOS la manifestación más frecuente del EICH ocular.⁶⁴

Los tratamientos prescritos previos al trasplante también pueden afectar a diferentes estructuras de la SO que podrían poner al paciente en una situación previa al trasplante que le haga más proclive a padecer EICH ocular.⁶⁴ Aunque la afectación de la glándula lagrimal principal y la inflamación corneo-conjuntival han sido ampliamente estudiadas, se conoce menos la implicación de las GM en el EICH ocular.⁸³

Por este motivo, el objetivo de este estudio es evaluar el estado de las GM en sujetos sometidos al tratamiento previo al trasplante alogénico de células hematopoyéticas y su evolución tras el trasplante.

Este estudio se realizó durante la estancia de tres meses en el Hospital Universitario de Colonia y en este capítulo se incluyen todos los resultados de la estancia internacional: adaptación del software de análisis de meibografía desarrollado en el Hospital Universitario de Colonia y análisis de las imágenes de sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas.

5.2. Material y métodos

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo y observacional, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Se incluyeron imágenes de meibografía de ambos párpados de un ojo seleccionado de forma aleatoria (tomadas con el topógrafo Oculus Keratograph 5M, Figura 5.1) de la base de datos de la Unidad de EICH ocular del Hospital Universitario de Colonia, Alemania. Las imágenes pertenecían a pacientes sometidos al tratamiento previo al trasplante alogénico de células hematopoyéticas entre los años 2014 y 2020, y a sujetos control sanos. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario de Colonia, bajo el código EPISODE: #16-405.



Figura 5.1. Oculus Keratograph 5M. Imagen obtenida con permiso de <http://www.oculus.de>

5.2.1. Evaluación de las imágenes de meibografía

Primero se graduó el área de pérdida de las GM con la escala *meiboscale* de Pult *et al* (Figura 5.2),³⁰ una escala cuantitativa discreta, entre 0 y 4, en la que 0 significa sin pérdida, 1 < 25%, 2 entre 25% y 50%, 3 entre 51% y 75% y 4 > 75%.

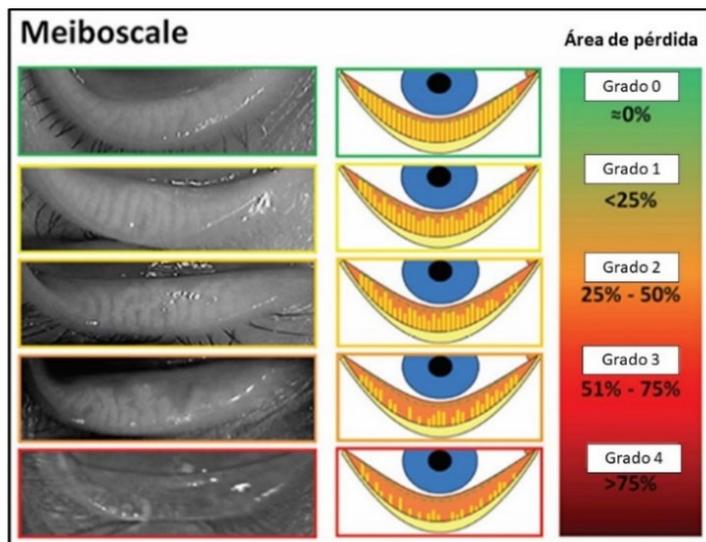


Figura 5.2. *Meiboscale* para graduar la pérdida de glándulas de Meibomio. Imagen obtenida y adaptada con permiso de Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci* 2012(5);89:760-9. Número de licencia:

5251250989241.

Además, las imágenes de meibografía se analizaron con el software MeVisLab (www-mevislab.de, *MeVis Medical Solutions AG*, Bremen, Alemania) por el mismo observador. Se trata de un software específico para análisis de imágenes médicas, utilizado en otros campos como en neurología o cardiología. Este software se personalizó durante la estancia de investigación de 3 meses en el Hospital Universitario de Colonia, Alemania, con la colaboración del Dr. Jens Horstmann para analizar las GM de forma semi automática. La intervención manual se requiere en los dos primeros pasos. En primer lugar, se seleccionó el área total del párpado delimitada por una elipse. En segundo lugar, se seleccionaron las GM dentro de esa área, marcándolas con un punto. Esta selección permitió al programa reconocer la GM completa. Una vez realizada esa selección, se obtuvo de forma automática una imagen segmentada con las GM en blanco y el fondo de la imagen en negro. Se obtuvo también una imagen tipo *skeleton* en la que las GM aparecen como líneas blancas. (Figura 5.3).

Para obtener las medidas numéricas se utilizó el software Fiji (*Fiji Is Just Image J*, *National Institutes of Health*, Bethesda, Maryland, Estados Unidos). Con la imagen segmentada se calculó el área ocupada por las GM (definida como la relación entre el número de píxeles blancos y el número de píxeles grises, expresado en porcentaje) y con la imagen *skeleton* se calculó el número de GM, la longitud media y la tortuosidad. En este caso, se definió la tortuosidad como la relación entre la longitud y la distancia mínima entre los extremos de la GM (Figura 5.4).

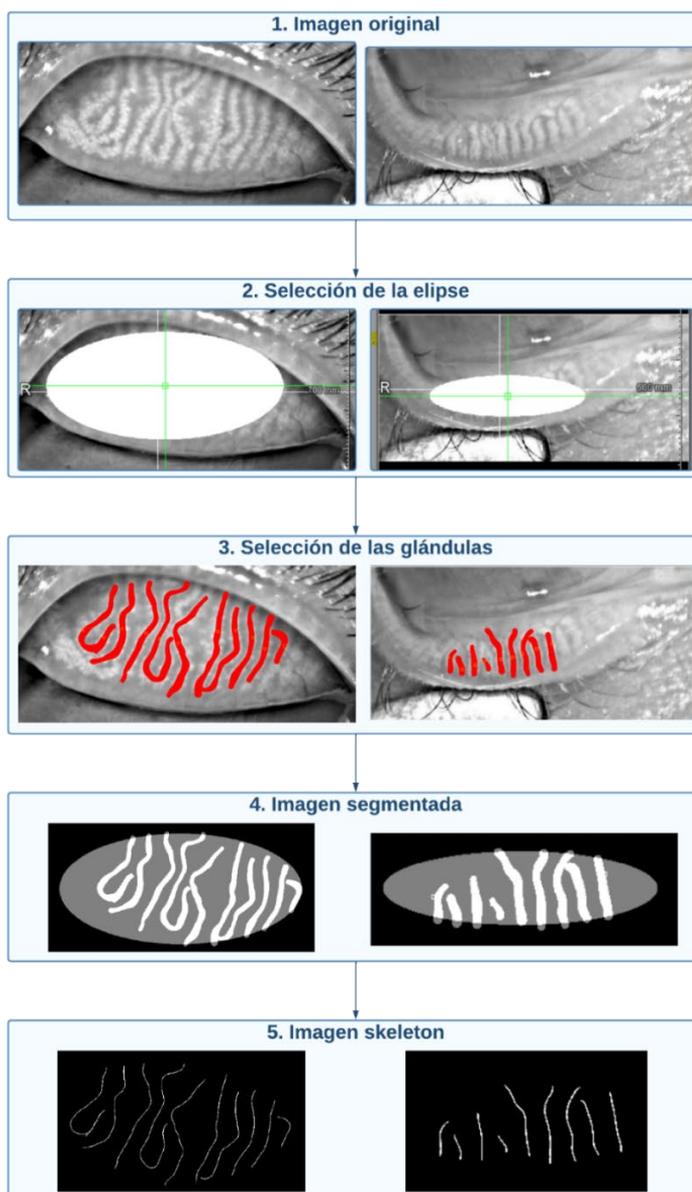


Figura 5.3. Pasos para el procesamiento de las imágenes utilizando el software MeVisLab. A la derecha se observa el párpado superior y a la izquierda el inferior. A partir de la imagen original se selecciona la zona de interés delimitada por una elipse, se seleccionan las glándulas de Meibomio, se procesa la imagen para obtener la imagen binaria y la imagen *skeleton*.

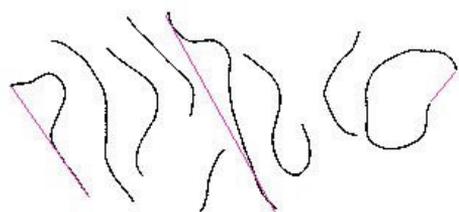


Figura 5.4. Análisis de meibografía. La imagen de arriba representa las glándulas en color blanco y el área del párpado en color gris. En la imagen de abajo se representa la extensión total de las glándulas (líneas negras) y la mínima distancia entre los extremos, (en color morado). La tortuosidad ha sido definida por Dai *et al.*⁴⁵ y Xiao *et al.*⁵² como la relación entre la longitud total y la mínima distancia entre los extremos.

5.2.2. Análisis estadístico

Se escogió uno de los ojos de manera aleatoria. Para las variables cualitativas (sexo), se muestran los porcentajes de cada nivel. Para la variable ordinal *meiboscale*, se muestran la mediana junto con su IC al 95%, mínimo y máximo. Para las variables cuantitativas (área de GM, número de GM, longitud y tortuosidad) se muestra la media, su IC al 95%, mínimo y máximo. Además, se comprobó la normalidad de todas las variables cuantitativas con el test de Shapiro-Wilk para muestras de menos de 50 individuos y el test de Kolmogorov-Smirnov para muestras de más de 50 individuos.

Para evaluar el estado de las GM de los sujetos sometidos al tratamiento previo al trasplante, se compararon las imágenes de meibografía de los sujetos justo antes del trasplante, con imágenes de sujetos control. Los dos grupos considerados fueron estadísticamente diferentes en cuanto a la edad, por lo que se utilizó el método del índice de propensión⁹² para balancear las dos muestras tanto en edad como en sexo. Este método consiste en construir, a partir de un conjunto de

variables observadas, una función que estime la probabilidad (propensión) que tiene cada individuo de estar en un grupo. El índice de propensión para cada individuo es la probabilidad de que ese individuo pertenezca a un grupo, condicionada al conjunto de variables observadas, en este caso la edad y el sexo. Para estimar esta probabilidad se utiliza un modelo de regresión, mediante la técnica de regularización LASSO (*Least Absolute Shrinkage and Selection Operator*, por sus siglas en inglés) para estabilizar las estimaciones y predicciones de este índice. Utilizando el índice de propensión se asignó un peso a cada observación, de forma que cada una de las observaciones no tiene la misma importancia en los análisis posteriores. Una vez estimados estos pesos utilizando el paquete *glmnet*³⁴⁶ de R, se utilizó el paquete *survey*³⁴⁷ para ajustar modelos lineales con pesos y evaluar la influencia del grupo en cada una de las características relacionadas con la morfología de las GM.

Para comprobar la evolución del estado de las GM, se seleccionaron imágenes de sujetos de los que había un seguimiento mínimo de un mes tras el trasplante de células hematopoyéticas, comparando las imágenes previas y posteriores al trasplante. Se compararon los resultados con el test T de Student para muestras relacionadas para las variables que cumplieron la hipótesis de normalidad. Para las variables que no cumplieron esa hipótesis, se utilizó la alternativa no paramétrica, el contraste de Wilcoxon para muestras relacionadas. Este análisis estadístico se realizó con el programa SPSS, versión 26 (*Statistical Package for the Social Sciences*).

5.3. Resultados

Se incluyeron en el estudio un total de 181 sujetos con imágenes de meibografía posterior al régimen de acondicionamiento y anterior al trasplante. El 58,6% (n = 106) fueron hombres y el 41,4% (n = 75) mujeres, con una media de edad de 52,34 (IC 95%: 50,19 – 54,5), rango 3 – 75 años. El grupo de sujetos control estaba formado por 24 sujetos, un 41,7% (n = 10) de hombres y un 58,3% de mujeres (n = 14), con una media de edad de 43,72 (IC 95%: 38,75 – 48,68), rango 27 – 66 años. El grupo de sujetos controles fue estadísticamente más joven que el grupo de pacientes sometidos al trasplante ($p = 0,003$), aunque no hubo diferencias significativas en el sexo (Chi cuadrado = 2,463; $p = 0,117$). Tras considerar los pesos asignados a cada observación con el método del índice de propensión, la edad media estimada en cada grupo fue de 51,27 (IC 95%: 49,04 – 53,5) años y 48,83 (IC 95%: 43,98 – 53,68) años, para los grupos de estudio y control respectivamente.

Los valores de las variables relacionadas con la morfología de las GM se incluyen en la Tabla 5.1 para el párpado superior y Tabla 5.2 para el párpado inferior. No se encontraron diferencias significativas en la pérdida de las GM valorada con *meiboscale* en el párpado superior ($p = 0,113$) pero en el párpado inferior, el grupo de sujetos trasplantados tuvo una puntuación mayor (grado 2 frente a grado 1 de los sujetos controles, $p = 0,001$), lo que indica un mayor grado de pérdida de GM.²⁷ (Figura 5.5). También se encontró una menor longitud de las GM en ambos párpados en sujetos previos al trasplante respecto a los sujetos control ($p < 0,001$), (Figura 5.6). No se encontraron diferencias significativas en el resto de las variables analizadas.

Tabla 5.1. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de los pacientes antes del trasplante y de los sujetos control.

Párpado superior				
Variable	Grupo	Mediana (IC 95%)	Rango	P valor
Meiboscale (0 – 4)	Trasplante	2 (2 – 3)	0 – 4	0,113
	Control	1 (1 – 3)	0 – 3	
Media (IC 95%)				
Área de GM (%)	Trasplante	20,27 (19,36 – 21,19)	3,26 – 33,14	0,880
	Control	20,03 (17,01 – 23,05)	7,67 – 29,69	
Número de GM	Trasplante	12,46 (11,86 – 13,06)	3 – 25	0,412
	Control	13,25 (11,60 – 14,90)	6 – 19	
Longitud (mm)	Trasplante	1,31 (1,23 – 1,40)	0,38 – 2,82	< 0,001
	Control	2,79 (2,50 – 3,08)	1,66 – 3,49	
Tortuosidad	Trasplante	1,13 (1,11 – 1,14)	1,11 – 1,83	0,059
	Control	1,17 (1,13 – 1,21)	1,02 – 1,43	

IC: intervalo de confianza, GM: glándulas de Meibomio, mm: milímetros.

Tabla 5.2. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado inferior de los pacientes antes del trasplante y de los sujetos control.

Párpado inferior				
Variable	Grupo	Mediana (IC 95%)	Rango	P valor
Meiboscale (0 – 4)	Trasplante	2 (2 – 3)	0 – 4	0,002
	Control	1 (0 – 2)	0 – 4	
Media (IC 95%)				
Área de GM (%)	Trasplante	16,39 (15,47 – 17,32)	2,18 – 36,3	0,910
	Control	16,26 (13,96 – 18,57)	8,09 – 31,41	
Número de GM	Trasplante	7,96 (7,55 – 8,38)	1 – 17	0,259
	Control	8,84 (7,49 – 10,19)	4 – 15	
Longitud (mm)	Trasplante	0,75 (0,70 – 0,80)	0,14 – 2,57	< 0,001
	Control	1,12 (1,00 – 1,25)	0,54 – 1,76	
Tortuosidad	Trasplante	1,15 (1,12 – 1,17)	1,02 – 2,33	0,861
	Control	1,14 (1,12 – 1,17)	1,08 – 1,24	

IC: intervalo de confianza, GM: glándulas de Meibomio, mm: milímetros.

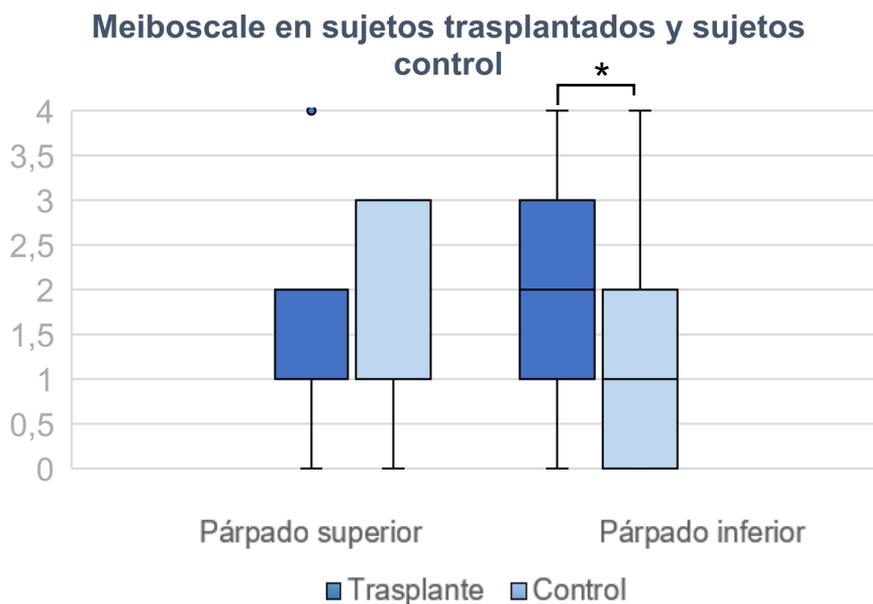


Figura 5.5. Valores de *meiboscale* en sujetos antes del trasplante y sujetos control para ambos párpados. En el diagrama, la caja representa el rango intercuartílico, la línea negra representa la mediana y los puntos representan los valores atípicos. *P = 0,001

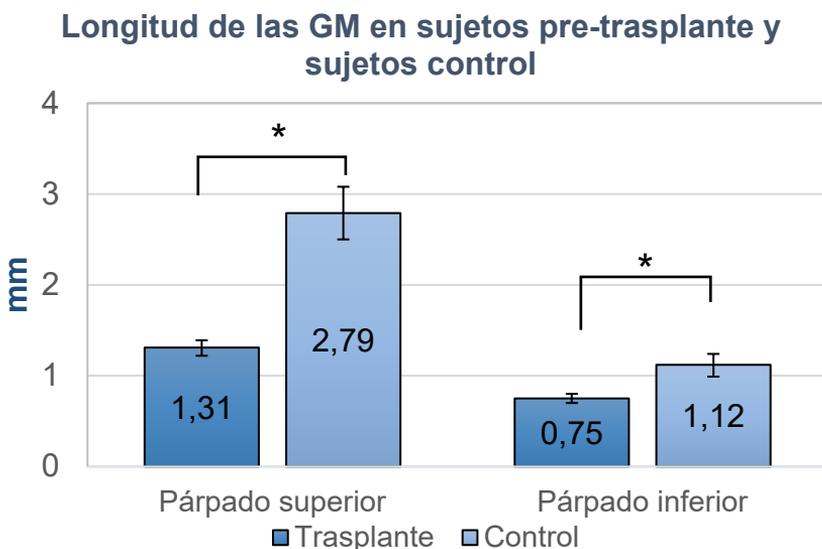


Figura 5.6. Valores de la longitud de GM en sujetos antes del trasplante y sujetos control para ambos párpados e intervalo de confianza al 95%. GM: glándulas de Meibomio, mm: milímetros. *P < 0,001.

Del grupo de sujetos previos al trasplante, se seleccionaron aquellos que contaban con imágenes de seguimiento, obteniendo finalmente un subgrupo de 31 pacientes con imágenes de seguimiento después del trasplante entre 1 y 38 meses. El 44,4% (n = 15) fueron hombres y el 61,5% (n = 16) mujeres, con una media de edad de 50,01 (IC 95%: 45,47 – 54,56), rango 20 – 73 años. La media de los meses de seguimiento post trasplante fue de $10,16 \pm 6,84$ (IC 95%: 7,65 – 12,57).

El diagnóstico anterior al trasplante se recoge en la Figura 5.7., y el diagnóstico de EICH sistémico y ocular posterior al trasplante se recoge en la Figura 5.8.

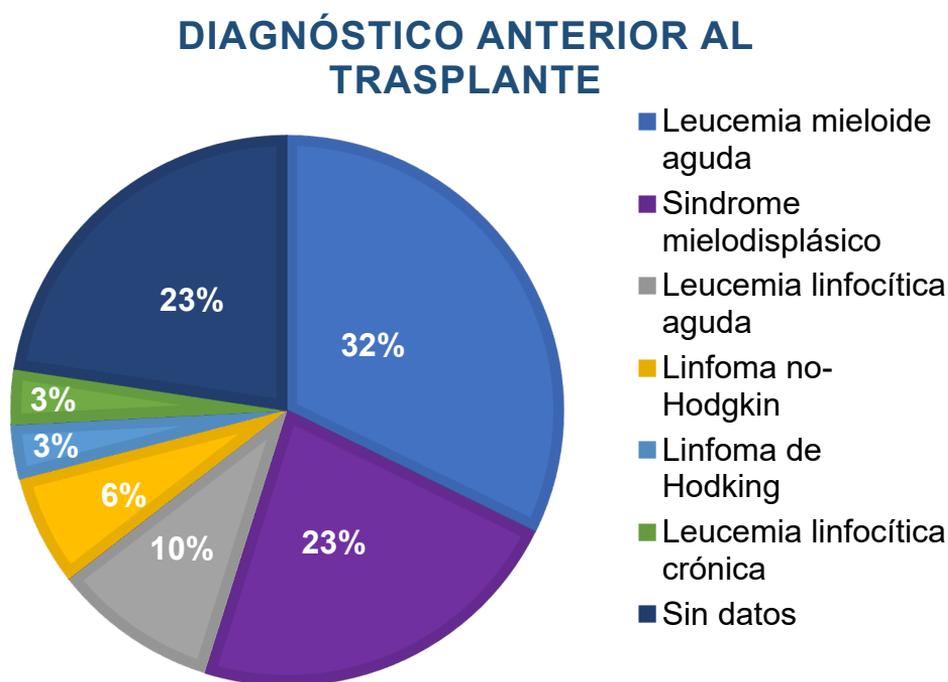
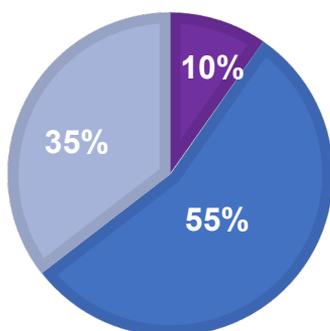


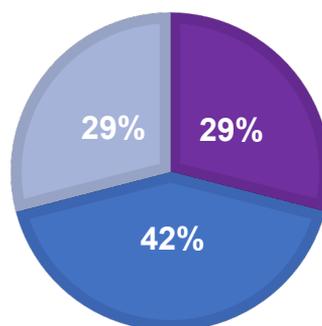
Figura 5.7. Diagnóstico anterior al trasplante en el grupo de sujetos con seguimiento posterior al trasplante.

EICH SISTÉMICO



■ No ■ Sí ■ Sin datos

EICH OCULAR



■ No ■ Sí ■ Sin datos

Figura 5.8. Diagnóstico de enfermedad de injerto contra huésped (EICH) después del trasplante en el grupo de sujetos con seguimiento posterior al trasplante.

El 54,84% de los sujetos desarrolló EICH sistémico frente al 9,68% que no lo desarrolló. No se obtuvieron datos del 35,48% de los sujetos. El 41,94% de los sujetos desarrolló EICH ocular frente a un 29,03% que no lo desarrolló. No se obtuvieron datos del 29,03%.

Los valores de las variables relacionadas con la morfología de las GM se incluyen en la Tabla 5.3 para el párpado superior y en la Tabla 5.4 para el inferior. La pérdida de las GM evaluada con *meiboscale* del párpado superior fue significativamente mayor después del trasplante ($p = 0,005$), no encontrando diferencias significativas en el párpado inferior (Figura 5.6). El área de GM fue menor en ambos párpados después del trasplante ($p < 0,001$ y $p = 0,002$, respectivamente, Figura 5.7). El número de GM también disminuyó significativamente tras el trasplante, tanto para el párpado superior ($p < 0,001$) como para el inferior ($p = 0,034$), (Figura 5.8). Sin embargo, la longitud de las GM fue significativamente mayor

después del trasplante en ambos párpados ($p < 0,001$ y $p = 0,048$; Figura 5.9). Con respecto a la tortuosidad, no se encontraron diferencias significativas en el párpado superior, pero aumentó de forma significativa en el párpado inferior ($p = 0,048$; Figura 5.10).

Tabla 5.3. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado superior de los pacientes antes y después del trasplante.

Párpado superior				
Variable	Grupo	Mediana (IC 95%)	Rango	P valor
Meiboscale (0 – 4)	Antes	2 (1,16 – 1,68)	0 – 2	0,005
	Después	2 (1,57 – 2,3)	0 – 3	
Media (IC 95%)				
Área de GM (%)	Antes	21,04 (18,76 – 23,32)	6,41 – 30,98	< 0,001
	Después	16,33 (14,06 – 18,6)	3,58 – 29,55	
Número de GM	Antes	13,58 (11,89 – 15,28)	3 – 25	< 0,001
	Después	10,84 (9,25 – 12,43)	4 – 18	
Longitud (mm)	Antes	1,58 (1,36 – 1,8)	0,29 – 2,52	< 0,001
	Después	2,26 (2,04 – 2,47)	0,91 – 3,47	
Tortuosidad	Antes	1,12 (1,1 – 1,13)	1,05 – 1,22	0,224
	Después	1,14 (1,11 – 1,17)	1,08 – 1,38	

IC: intervalo de confianza, GM: glándulas de Meibomio.

Tabla 5.4. Valores medios de las variables relacionadas con la morfología de las GM del párpado inferior de los pacientes antes y después del trasplante.

Párpado inferior				
Variable	Grupo	Mediana (IC 95%)	Rango	P valor
Meiboscale (0 – 4)	Antes	2 (1,44 – 2,11)	0 – 3	0,224
	Después	2 (1,69 – 2,31)	0 – 3	
Media (IC 95%)				
Área de GM (%)	Antes	16,41 (14,04 – 18,79)	5 – 36	0,002
	Después	11,74 (9,27 – 14,31)	1,43 – 27,91	
Número de GM	Antes	8,32 (7,28 – 9,37)	2 – 14	0,034
	Después	6,81 (5,68 – 7,94)	2 – 11	
Longitud (mm)	Antes	0,88 (0,78 – 0,98)	0,15 – 1,31	< 0,001
	Después	1,20 (1,06 – 1,35)	0,6 – 2,54	
Tortuosidad	Antes	1,17 (1,1 – 1,23)	1,05 – 1,87	0,048
	Después	1,23 (1,14 – 1,33)	1,06 – 2,3	

IC: intervalo de confianza, GM: glándulas de Meibomio.

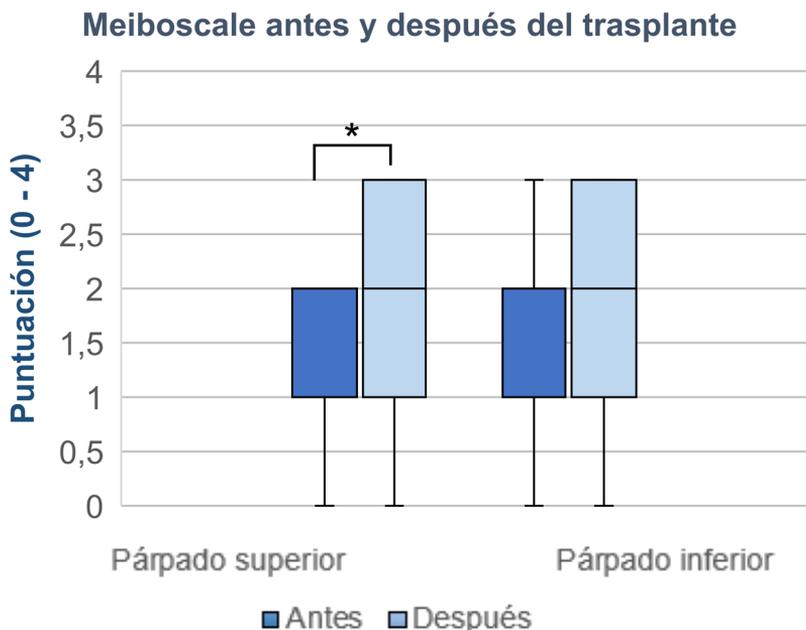


Figura 5.9. Valores de *meiboscale* antes y después del trasplante para ambos párpados. En el diagrama, la caja representa el rango intercuartílico y la línea negra representa la mediana. *P = 0,005

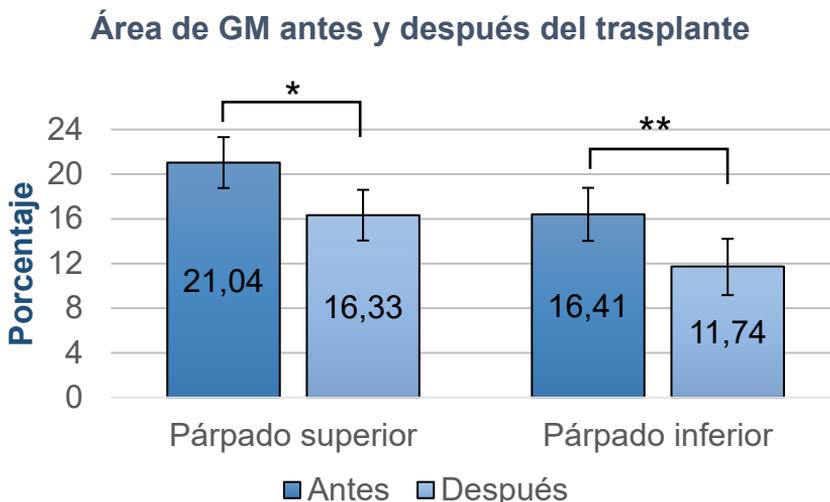


Figura 5.10. Valores del área de GM antes y después del trasplante para ambos párpados e intervalo de confianza al 95%. GM: glándulas de Meibomio. *P < 0,001; **P = 0,002

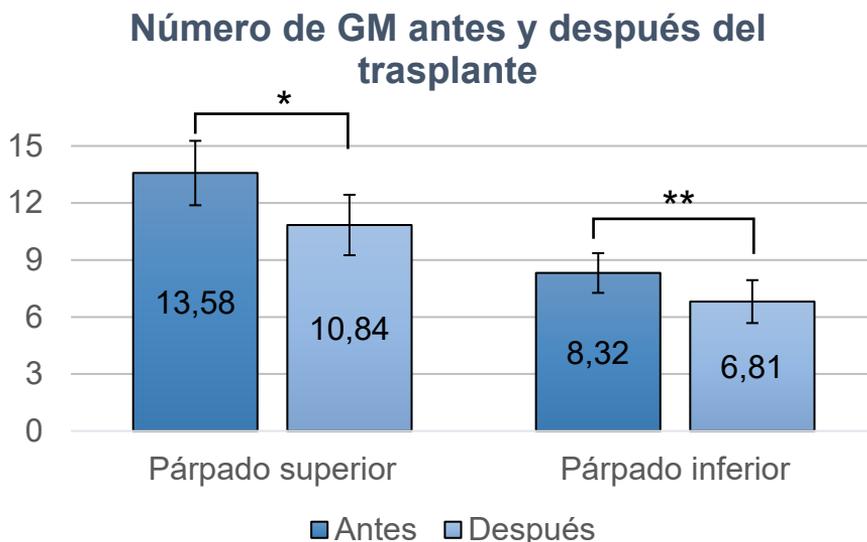


Figura 5.11. Valores del área de GM antes y después del trasplante para ambos párpados e intervalo de confianza al 95%. GM: glándulas de Meibomio. *P < 0,001; **P = 0,034

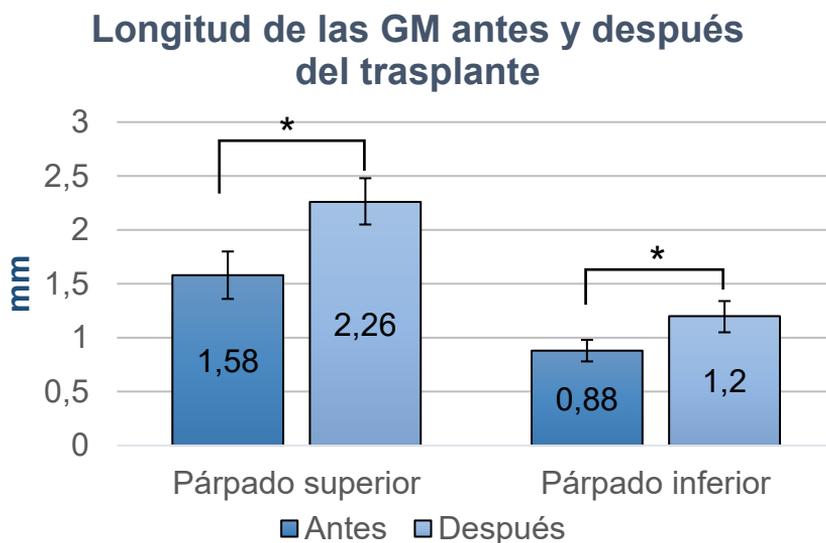


Figura 5.12. Valores de la longitud de las GM antes y después del trasplante para ambos párpados e intervalo de confianza al 95%. GM: glándulas de Meibomio, mm: milímetros. *P < 0,001.

Tortuosidad de las GM antes y después del trasplante

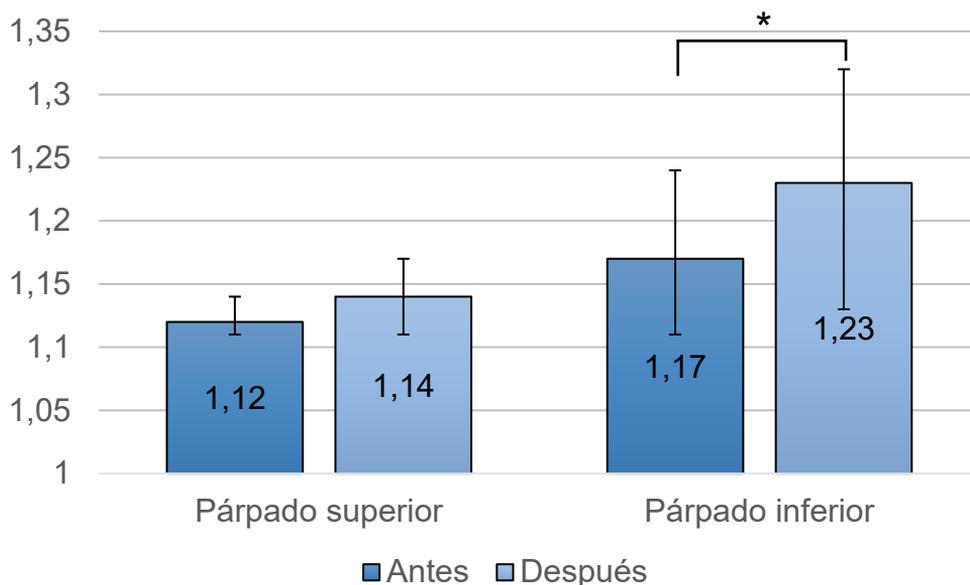


Figura 5.13. Valores medios de la tortuosidad de las GM antes y después del trasplante para ambos párpados e intervalo de confianza al 95%. GM: glándulas de Meibomio. *P = 0,048.

5.4. Discusión

En este estudio se ha evaluado la morfología de las GM en pacientes sometidos a tratamientos de quimioterapia y/o radioterapia, y/o terapia inmunosupresora previos al trasplante de células hematopoyéticas. Además, se ha realizado el seguimiento de un subgrupo de 31 pacientes para observar los cambios en la morfología de las GM tras el trasplante.

Con respecto al estado de las GM de sujetos sometidos al tratamiento previo al trasplante, se ha observado un grado de pérdida medio en ambos párpados. En el párpado superior, la diferencia entre los sujetos control y los pacientes sometidos a tratamiento antes del trasplante fue muy pequeña y no llegó a ser significativa, sin embargo,

esta diferencia fue mayor y significativa en el párpado inferior. Hwang *et al.*⁶⁰ graduaron el área de pérdida de GM con la escala de Arita *et al.*²⁹ en 37 pacientes antes de someterse al trasplante de células hematopoyéticas, con una media de edad de $42,6 \pm 14,5$ años. Las imágenes fueron tomadas en ambos párpados con una cámara acoplada a la lámpara de hendidura (XC-EI50, Sony, Tokio, Japón). Obtuvieron un grado de pérdida de $1 \pm 0,9$ en el párpado superior y $1,3 \pm 0,8$ en el párpado inferior del ojo derecho; y $1,1 \pm 0,8$ en el párpado superior y $1,2 \pm 0,8$ en el párpado inferior del ojo izquierdo. Por otra parte, Giannaccare *et al.*⁵⁸ obtuvieron resultados similares a los del presente estudio en el párpado inferior en 46 sujetos antes de someterse al trasplante de células hematopoyéticas, comparados con 30 sujetos controles pareados en edad y sexo. Las imágenes fueron tomadas con la cámara DC-4/BG-5 (Topcon, Tokio, Japón) acoplada a la lámpara de hendidura. Utilizaron la misma escala que en el presente estudio y observaron un grado de pérdida mayor en los sujetos sometidos al trasplante frente a los sujetos controles ($1,7 \pm 0,8$ frente a $1 \pm 0,8$; $p = 0,001$). En este estudio, relacionaron los hallazgos clínicos encontrados en la exploración con determinadas características hematológicas como el tipo de tumor (leucemia aguda frente a otro tipo de tumor), la fase de la enfermedad (temprana, remisión parcial o completa, o avanzada), el tiempo transcurrido entre el diagnóstico hematológico y la exploración oftalmológica, y la terapia previa (trasplante autólogo de células hematopoyéticas, quimioterapia o radioterapia). Descubrieron que tanto el tipo de tumor como el tratamiento previo con quimioterapia tenían una relación significativa con el grado de pérdida de GM.⁵⁸ Por último, Engel *et al.*⁵⁷ también evaluaron el grado de pérdida de GM en el párpado

superior con la escala *meiboscale* de Pult *et al.*,²⁰⁴ aplicada a imágenes obtenidas con el Keratograph 5M, en un grupo de 32 sujetos antes de someterse al trasplante y 30 sujetos controles. Aunque el grado de pérdida fue mayor en los sujetos del grupo del trasplante, las diferencias no fueron significativas. Las diferencias entre los resultados de los diferentes estudios podrían deberse a dos factores. Por un lado, los diferentes instrumentos utilizados para tomar las imágenes, que pueden influir en la visibilidad final de las mismas, influyendo en la interpretación subjetiva de las escalas. Por otro lado, la variedad de las escalas utilizadas podría dar lugar a resultados diferentes, ya que la escala de Arita *et al.*²⁹ define los grados de pérdida en pasos de 33% y la escala de Pult *et al.*²⁰⁴ los divide en pasos de 25%, dando lugar a escalas de 0 a 3 y de 0 a 4, respectivamente. Por esta razón, es importante cuantificar de forma objetiva el área de pérdida o el área de GM, para poder discriminar las diferencias de una manera más fina que con las escalas subjetivas. La escala subjetiva podría estar sobre estimando ya que un sujeto con un < 25% de pérdida sería categorizado como grado 1 y un sujeto con un 27% sería categorizado como grado 2. Categorizar una escala continua como es un porcentaje puede maximizar diferencias mínimas, como en este ejemplo: una diferencia del 2% parece poco relevante, pero al categorizar se clasifican en grupos distintos.

En el área de GM se obtuvieron valores prácticamente idénticos entre el grupo del trasplante y el grupo de sujetos controles, 20% para el párpado superior y 16% para el inferior en el presente estudio, por lo que no hubo diferencias significativas. Estos resultados contrastan con los de Engel *et al.*⁵⁷ que, además de evaluar el grado de pérdida de manera subjetiva, cuantificaron el área de GM de forma semi automática con el

software *Olympus Soft Imaging Solution's Cell F 3.4* (Olympus Corporation, Tokio, Japón). El área de GM en el párpado superior en los sujetos del grupo trasplante fue significativamente menor que en los sujetos controles, tanto para el ojo derecho ($37,8 \pm 10,3\%$ frente a $31 \pm 12,4\%$; $p = 0,05$), como para el izquierdo ($37,9 \pm 8,6\%$ frente a $29,2 \pm 12,5\%$; $p = 0,01$). El hecho de que el área de GM sea mayor que en el presente estudio podría deberse a que Engel *et al.*⁵⁷ tuvieron en cuenta el espacio inter glandular como área de GM y en el presente estudio no se contabilizó ese espacio como área de GM. Sin embargo, al contabilizar el espacio inter glandular como área de GM, se pierde información sobre otras características, como por ejemplo la anchura de las GM. Bernabei *et al.*⁵⁹ evaluaron a 33 pacientes antes del trasplante, con una media de edad de $46,5 \pm 14,6$ años. Tomaron imágenes de meibografía del párpado inferior con la cámara DC-4/BG-5 acoplada a la lámpara de hendidura y cuantificaron el área de pérdida con *Image J*, obteniendo un valor de $24,3 \pm 10,01\%$. Giannaccare *et al.*⁵⁸ también contabilizaron el área de GM con el software *Image J*, pero para comparar el porcentaje de pérdida de GM en los tercios nasal, central y temporal del párpado inferior. Observaron un mayor grado de pérdida en el tercio nasal ($39,8 \pm 21,4\%$) frente al central ($18,5 \pm 15,6\%$; $p = 0,001$) y el temporal ($25,1 \pm 18,3\%$; $p = 0,05$). Hasta donde sabemos, no existen más estudios que cuantifiquen el área de GM en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas y este sería el primer estudio en el que se ha cuantificado el área de GM de manera semi automática.

El número de GM fue menor previo al trasplante, pero las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas para ninguno de los dos párpados. Estos datos podrían indicar que cuando se evalúa el grado de

pérdida de las GM con escalas subjetivas, se aprecia que el área que ocupan las GM disminuye en pacientes sometidos a los tratamientos de quimioterapia, radioterapia y/o terapia inmunosupresora anterior al trasplante de células hematopoyéticas. Sin embargo, si no disminuye el número de GM, es posible pensar que los cambios que se observan en la morfología de las GM se producen en otras características, como por ejemplo la longitud o la anchura.

Con respecto a la longitud de las GM, se ha observado una menor longitud de las GM en los sujetos del grupo previo al trasplante, en ambos párpados. Estas diferencias podrían estar indicando una alteración de la morfología de las GM incluso antes del trasplante, como han sugerido otros autores,^{57,58} debido al régimen de acondicionamiento y los tratamientos derivados del mismo al que se somete a los sujetos antes del trasplante. Giannaccare *et al.*⁵⁸ observaron un mayor grado de pérdida en el párpado inferior en los sujetos del grupo trasplantado frente a los controles, como se ha mencionado anteriormente. Al utilizar escalas subjetivas, es posible que la característica que se esté evaluando realmente sea un acortamiento de las GM, ya que se evalúa como zona de pérdida el área del párpado hasta donde deberían llegar las GM. Hasta donde sabemos, en el presente estudio se cuantifica por primera vez los cambios en la longitud de las GM antes del trasplante de células hematopoyéticas. Por todo ello, se necesitan más estudios que confirmen los hallazgos obtenidos en el presente estudio, ya que al utilizar un software semi automático, puede existir un sesgo introducido en la selección manual del área del párpado y las GM.

Finalmente, con respecto al índice de tortuosidad, se encontró un valor mayor en el párpado superior en los sujetos controles que se quedó

al borde de la significación estadística. Este valor podría deberse a que los sujetos control tuvieron una mayor longitud media. En el párpado inferior, los valores de tortuosidad fueron muy similares no encontrando diferencias significativas entre los grupos. Al igual que la longitud, la tortuosidad de las GM ha sido estudiada en otras poblaciones, pero no en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas, por lo que este sería el primer estudio en aportar estos datos, medidos de forma semi automática. Como se ha visto previamente existe una gran discrepancia en la definición de tortuosidad y los métodos utilizados para evaluarla. Por ese motivo, dentro de esta tesis doctoral se ha desarrollado un nuevo índice que permite definir mejor el término 'tortuoso' y, en un futuro, aplicarlo no solo a sujetos sanos si no a otras poblaciones como los sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas.

En resumen, se ha encontrado un grado de pérdida de GM (*meiboscale*) mayor en el párpado inferior y una longitud menor en ambos párpados en los sujetos del grupo previo al trasplante frente a los sujetos control. Estos resultados podrían indicar que la morfología de las GM sufre ciertos cambios incluso antes del trasplante, que podrían estar relacionados con el régimen de acondicionamiento al que se someten los pacientes antes del trasplante. La relación entre la quimioterapia y radioterapia con la EOS ha sido descrita previamente.^{236-238,348} Algunos de los fármacos utilizados en la quimioterapia y sus efectos en las estructuras oculares se muestran a continuación. El busulfan, utilizado en el tratamiento de la leucemia (que representa un 1% de todos los tipos de cáncer según la Sociedad Americana de Cáncer) mielode y la mielofibrosis,³⁴⁸ puede provocar queratoconjuntivitis;³⁴⁹ la carmustina, utilizada en el tratamiento del cáncer de colon y los gliomas malignos,³⁴⁸

puede provocar cambios en el epitelio corneal y conjuntival;³⁵⁰ el 5-fluorouracilo, utilizado en varios tipos de cáncer como el de mama o el carcinoma de células basales entre otros,³⁴⁸ puede causar blefaritis, conjuntivitis y queratitis;³⁵¹ el metotrexato, utilizado en el tratamiento de la leucemia pero también en otras patologías como la artritis reumatoide,³⁴⁸ puede provocar blefaritis, conjuntivitis y disminución de la producción lagrimal;⁹¹ la mitomicina, utilizada en el cáncer de colon,³⁴⁸ puede alterar la PL y provocar inflamación corneal, necrosis estromal y pérdida endotelial.^{350,352,353} Por otro lado, la radioterapia puede provocar EOS ya que afecta a las glándulas lagrimales.^{236,237}

Con respecto a las GM en concreto, el metotrexato es el fármaco que más les afecta ya que es un antimetabolito que puede provocar además blefaritis, irritación ocular e hiperemia conjuntival.²³⁸ Dado que se utiliza para el tratamiento de la leucemia, podría alterar el estado de las GM antes del trasplante de células hematopoyéticas. En relación con la quimioterapia y las GM, el estudio de Eom *et al.*,³⁵⁴ comparó dos grupos de pacientes sometidos a diferentes tratamientos de quimioterapia, uno con obstrucción del conducto lagrimal y otro sin obstrucción. Observó un mayor porcentaje de pérdida de las GM, cuantificado con *Image J*, en el grupo con obstrucción tanto en el párpado superior ($42,9 \pm 16,4\%$ frente a $17,3 \pm 6,7\%$; $p < 0,001$) como en el inferior ($80,1 \pm 16,7\%$ frente a $22,8 \pm 13\%$; $p < 0,001$), sugiriendo que la quimioterapia, además del conducto lagrimal, bloquea también los orificios de las GM. Sin embargo, no encontraron diferencias entre el grupo tratado con quimioterapia sin obstrucción del conducto lagrimal y un grupo de sujetos controles (párpado superior $17,3 \pm 5,7\%$ y párpado inferior $20,3 \pm 3,9\%$). Esta obstrucción de los orificios podría producirse por la inflamación inducida

por la quimioterapia y la consiguiente fibrosis de las células epiteliales. También postulan que la quimioterapia puede inhibir la proliferación de los meibocitos, produciendo atrofia de los conductos de las GM. Engel *et al.*⁵⁷ también sugieren que la morfología de las GM se altera incluso antes del trasplante. Estos autores no encontraron diferencias en el área de GM entre un grupo de sujetos controles (ojo derecho $37,8 \pm 10,3\%$ de área de GM, ojo izquierdo $37,9 \pm 8,6\%$ de área de GM) y un grupo de sujetos sin EICH ocular tras el trasplante, por lo que su hipótesis es que la pérdida de GM puede ser un factor predictivo para el desarrollo de la EICH ocular. Por esta razón, sugieren que la EICH con afectación ocular puede tener un origen multifactorial que se inicia incluso antes del trasplante con la infiltración de células tumorales y/o los tratamientos con quimioterapia o radioterapia.⁵⁷

Con respecto al estado de las GM después del trasplante en el subgrupo de seguimiento, se observó un aumento del grado de pérdida evaluado con la escala *meiboscale* de Pult *et al.*³⁰ después del trasplante en el párpado superior, ya que, aunque el valor mediano sea el mismo, se observa que los IC no tienen solapamiento. pero no se observaron diferencias significativas en el inferior. En el estudio longitudinal y retrospectivo de Hwang *et al.*,⁶⁰ evaluaron a 37 pacientes con EICH ocular (media de edad = $42,6 \pm 14,5$ años) un año después del trasplante, y observaron un aumento del grado de pérdida de GM en ambos párpados, tanto para el ojo derecho como para el ojo izquierdo (Tabla 5.5). Pero no incluyeron un grupo control, por lo que no es posible saber si la pérdida de las GM se debe al desarrollo de la enfermedad, al trasplante o a los tratamientos anteriores al mismo.

Tabla 5.5. Valores de grado de pérdida (escala Arita) de GM antes y después del trasplante en el estudio realizado por Hwang *et al.*⁶⁰

	Ojo derecho			Ojo izquierdo		
	Antes	Después	P valor	Antes	Después	P valor
Párpado superior	1 ± 0,9	1,4 ± 1,1	0,004	1,1 ± 0,8	1,4 ± 1,0	0,027
Párpado inferior	1,3 ± 0,8	1,6 ± 1	0,016	1,2 ± 0,8	1,5 ± 1	0,016

Otros autores han evaluado a sujetos con EICH ocular solo en la fase posterior al trasplante de células hematopoyéticas y han comparado los resultados con sujetos sin EICH ocular y/con sujetos controles.^{61,355–357} Zhao *et al.*³⁵⁵ no encontraron diferencias significativas en el grado de pérdida de GM entre el grupo que desarrolló EICH ocular y el grupo que no la desarrolló, ni en el párpado superior ($1,7 \pm 1$ frente a $1,6 \pm 0,8$; respectivamente, $p = 0,753$), ni en el inferior ($1,9 \pm 1,1$ frente a $1,4 \pm 0,9$; respectivamente, $p = 0,154$). Estos resultados son similares a los obtenidos por Hwang *et al.*⁶⁰ después del trasplante. Las únicas diferencias significativas que encontraron entre los sujetos que desarrollaron EICH ocular y los que no, fueron una mayor inflamación y un mayor grado de fibrosis.³⁵⁵ Ban *et al.*³⁵⁶ observaron un mayor grado de pérdida de GM en el grupo con EICH ocular frente al grupo sin EICH ocular ($1,41 \pm 0,8$ frente a $0,5 \pm 0,52$; $p = 0,0014$). Dikmetas *et al.*³⁵⁷ encontraron un mayor grado de pérdida en los sujetos con EICH ocular que en los sujetos controles, tanto en el párpado superior ($2,9 \pm 1,1$ frente a $0,7 \pm 0,4$; $p < 0,001$), como en el inferior ($3,2 \pm 1,2$ frente a $0,5 \pm 0,3$; $p < 0,001$). Choi *et al.*⁶¹ encontraron un mayor grado de pérdida en los sujetos con EICH ocular que en los sujetos control ($4,82 \pm 0,41$ frente a $0,68 \pm 0,39$; $p < 0,05$).²⁹ Los resultados de estos estudios podrían sugerir

que existe una relación entre el grado de pérdida de GM y la probabilidad de desarrollar EICH ocular. Sin embargo, su limitación es que al no evaluar el estado de las GM antes del trasplante, no es posible afirmar que la pérdida de GM se deba a los tratamientos previos, al trasplante o al desarrollo de la EICH ocular.

El número de GM disminuyó de forma significativa después del trasplante en ambos párpados. Estos resultados podrían estar relacionados con la disminución del área de GM que también se ha observado después del trasplante. Hasta donde sabemos esta es la primera vez que se contabilizan las GM antes y después del trasplante de células hematopoyéticas.

Con respecto a la longitud, se ha encontrado un resultado inesperado, ya que la longitud de las GM fue mayor después del trasplante, tanto para el párpado superior como para el inferior. Estos resultados son contradictorios ya que, al disminuir el número y el área de GM, sería esperable haber encontrado una reducción también en la longitud y puede deberse a varias razones. En primer lugar, la forma en la que se evertir el párpado determina la cantidad de área de párpado expuesta al tomar la imagen. Es posible que la imagen posterior al trasplante fuera tomada por un observador distinto, cambiando la forma de evertir el párpado y exponiendo una zona mayor, de manera que el área también fuera mayor en las imágenes posteriores al trasplante, exponiendo más las GM y obteniendo una mayor longitud. Por ese motivo, es muy importante que la eversión del párpado sea muy similar entre las imágenes a comparar, para evitar problemas de repetibilidad. En segundo lugar, la visibilidad de las imágenes es muy determinante en el análisis ya que podrían aparecer más brillos zonas borrosas que

afectan a la detección de las GM por parte del programa MeVisLab. Además, se trata de un programa semi automático que requiere de intervención manual para señalar tanto el área total a analizar como cada una de las GM, por lo que la calidad de la imagen juega un papel importante en el resultado final. Existe cierta controversia sobre la reversibilidad de la pérdida de GM, ya que algunos autores han observado una disminución del área de pérdida tras el tratamiento para la DGM.^{255,358} Sin embargo, no se considera posible regenerar un tejido atrofiado, por lo que la mejora en el área de pérdida observada en estos estudios puede deberse a una mejora de calidad de las imágenes que permita ver mejor las glándulas que antes eran menos distinguibles.⁵⁹

Finalmente, también se observó una tortuosidad significativamente mayor en el párpado inferior tras el trasplante, pero se debe tomar este resultado con cautela por las limitaciones comentadas en el apartado anterior, ya que en el cálculo que hemos utilizado, el índice de tortuosidad depende directamente de la longitud.

Se ha observado que existen muy pocos estudios longitudinales que evalúen el estado de las GM en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas. Además de los mencionados anteriormente, otro estudio longitudinal es el de Giannaccare *et al.*,³⁵⁹ con un seguimiento de entre 3 y 6 meses. En este estudio, un 53% de los pacientes ya fueron diagnosticados con EOS antes del trasplante. Evaluaron la función de las GM de acuerdo con la expresión y calidad de la secreción de 0 a 27 según la escala de Faulks y Bron.¹⁹⁷ La función de las GM empeoró después del trasplante, tanto para el grupo con EOS previo ($6,5 \pm 3,5$ frente a $9,1 \pm 7,5$), como para el grupo sin EOS previo ($1,5 \pm 1,1$ frente a $6,5 \pm 5,5$). Sin embargo, no evaluaron la morfología de las GM ya que no realizaron

meibografía. Por todo ello, el presente estudio pretende arrojar más información sobre los cambios que sufre la morfología de las GM antes y después del trasplante de células hematopoyéticas al ser el primero en cuantificar el área y el número de GM, su longitud y su tortuosidad de manera semi objetiva. Sin embargo, cabe mencionar ciertas limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio retrospectivo en el que se han incluido los sujetos que tenían imágenes de meibografía anteriores al trasplante y se ha seleccionado después un subgrupo con imágenes de seguimiento. Es difícil obtener imágenes de seguimiento de todos los pacientes sometidos al trasplante de células hematopoyéticas ya que la EICH es la primera causa de muerte en estos sujetos trasplantados.²³⁰ Entre un 40% y un 50% de los pacientes con EICH crónica mueren antes de los 10 años de desarrollar la enfermedad y en el caso de los que desarrollan EICH crónica después de la forma aguda, la mortalidad aumenta hasta el 80% a los 10 años.³⁶⁰

Es necesario realizar un estudio longitudinal prospectivo en el que el tiempo de seguimiento sea similar para todos los sujetos y el tamaño muestral sea mayor o se incluya un grupo control. Sin embargo, dado que conseguir el mismo tiempo de seguimiento podría no ser posible, sería interesante realizar un estudio longitudinal prospectivo en el que se evaluaran los diferentes estados en los que un paciente puede encontrarse a lo largo de su seguimiento. En este tipo de estudios, que, en general, requieren de un tamaño muestral muy grande, el tiempo de seguimiento es la variable principal y puede modelizarse la progresión de la enfermedad a lo largo del tiempo. Además, sería también interesante incluir el tratamiento previo al que fue sometido cada sujeto antes del trasplante, ya que en este estudio no se tuvo acceso a esos datos.³⁷¹ Por

último, la intervención manual que requiere el software MeVisLab podría dar lugar a variabilidad en los resultados.

En conclusión, se ha observado que los sujetos sometidos al régimen de acondicionamiento previo al trasplante de células hematopoyéticas tuvieron una menor longitud de las GM en ambos párpados y un mayor grado de pérdida de GM en el párpado inferior que los sujetos controles. Estas diferencias podrían estar relacionadas con tratamientos utilizados en el régimen de acondicionamiento, como la quimioterapia, la radioterapia o la terapia inmunosupresora. Después del trasplante, el grado de pérdida de GM aumentó en ambos párpados, mientras que el área y el número de GM disminuyeron, también en ambos párpados. Sin embargo, la longitud aumentó tras el trasplante, en ambos párpados, y la tortuosidad también fue mayor en el párpado inferior. Son necesarios estudios prospectivos y longitudinales que evalúen la morfología de las GM de manera objetiva y evalúen además la relación entre la alteración de las GM y la probabilidad de desarrollar EICH ocular.

CAPÍTULO 6: EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PULSACIÓN TÉRMICA EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES CONTROLADAS

6.1. Introducción

El tratamiento tradicional para la DGM ha consistido en la realización de higiene palpebral, mediante la aplicación de calor, masaje y limpieza manual. Sin embargo, se trata de una técnica no estandarizada y que requiere tiempo, lo que disminuye su efectividad.^{69,253,259} Como consecuencia, se han desarrollado nuevos dispositivos para el tratamiento de la DGM, como el LipiFlow®. La eficacia del LipiFlow® ha sido ampliamente probada y sus efectos perduran hasta un año después del tratamiento.⁷³⁻⁷⁵

El estilo de vida actual hace que las personas estén constantemente expuestas a ambientes adversos, como baja humedad, alta temperatura o flujos de aire, especialmente en lugares cerrados. Estas condiciones adversas empeoran los signos y síntomas relacionados con la EOS, cuya primera causa es la DGM.^{80,96} Por esta razón, es importante evaluar el efecto de las terapias relacionadas con el EOS en diferentes condiciones ambientales.

El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia del dispositivo LipiFlow® en sujetos con DGM durante un año de seguimiento y bajo condiciones ambientales normales y adversas. Este estudio ha dado

lugar a la publicación que se puede consultar en el apartado de difusión de la tesis doctoral.

6.2. Material y métodos

Se llevó a cabo un estudio clínico prospectivo, no comparativo, registrado en el *US National Institutes of Health (ClinicalTrials.gov)*, con el número de identificación NCT03843983. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Área de Salud de Valladolid Este y la Comisión de Investigación del IOBA, Universidad de Valladolid (Apéndice 6.2, acceso desde el código QR). El estudio se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Los participantes fueron reclutados en el IOBA, donde firmaron el consentimiento informado (Apéndice 6.2, acceso desde el código QR) antes de participar en el estudio, tras haberse explicado apropiadamente y resuelto todas sus dudas.



6.2.1 Sujetos de estudio

Se reclutaron sujetos con EOS debido a DGM. Los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

Criterios de inclusión

- Sujetos mayores de edad, capaces de otorgar libremente el consentimiento informado para participar en el estudio.
- Resultado en el cuestionario OSDI ≥ 13 .²⁹⁹
- Puntuación de la secreción de las GM en el párpado inferior en ambos ojos ≤ 12 según *Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion*

(MGYLS) score tras aplicar presión con el *Meibomian Gland Evaluator* (MGE, TearScience, Morrisville, Carolina del Norte, Estados Unidos durante 10 – 15 segundos.⁷³

- Tener al menos 10 de 15 glándulas funcionales en el párpado inferior, evaluadas con el MGE.⁷⁰
- Aceptar no usar ninguna medicación para la DGM o la EOS, ni sistémica (por ej. doxiciclina) ni local ocular (ej. pomadas, colirios...) a menos que sea necesario, en cuyo caso se recogió en el cuaderno de recogida de datos. Tampoco realizaron normas de higiene palpebral durante el estudio.

Criterios de exclusión

- Cualquier patología ocular excepto enfermedad de la SO debido a DGM.
- Uso de tratamiento sistémico o tópico para DGM o EOS severo durante el estudio (a excepción de lágrimas artificiales a demanda, lubricantes oculares o complementos alimenticios).
- Uso de medicación sistémica que cause sequedad durante el estudio.
- Historia de inflamación ocular severa o infección en los últimos 6 meses previos al estudio.
- Anormalidad del párpado que afecte a su función.
- Cualquier cirugía o trauma ocular que pueda afectar a la sensibilidad de la córnea y/o a la distribución normal de la lágrima en los últimos 6 meses previos al estudio.
- Uso de LC en los últimos 15 días previos al estudio y durante la duración del mismo.

- Oclusión de los puntos lagrimales en los últimos 3 meses previos al estudio.
- Embarazo o lactancia.

6.2.1. Diseño del estudio

Se llevó a cabo un total de 6 visitas por cada individuo: una visita de inclusión, una visita basal, una visita de aplicación de LipiFlow® y 3 visitas de seguimiento: a los 3, 6 y 12 meses después del tratamiento. Los datos recogidos entre la visita basal y las de seguimiento fueron comparados y evaluados estadísticamente.

Visita de inclusión

Los participantes acudieron a la Unidad de Inmunología Ocular del IOBA, donde fueron reclutados tras comprobar que cumplían los criterios de inclusión y exclusión del estudio. Firmaron el consentimiento informado y se programó la visita basal en los siguientes 14 días. En esta visita se evaluó el grado de blefaritis anterior y la AV, que se escogió como variable de seguridad. Ambas medidas se tomaron también en el resto de las visitas.

Visita basal

Los sujetos acudieron a la visita sin haber utilizado lágrimas artificiales durante las 4 horas previas a la misma para evitar un posible efecto de las lágrimas en la superficie ocular. Permanecieron durante 30 minutos en la cámara de ambiente controlado CELab,⁷⁸ expuestos a una condición ambiental controlada normal: 23°C y 50% de humedad relativa.⁷⁸ Durante estos 30 minutos de adaptación, se tomaron todos los datos necesarios de la historia clínica y los participantes realizaron los

cuestionarios. A continuación, se realizaron las pruebas clínicas (Figura 6.1), siempre permaneciendo en condición ambiental controlada normal. Posteriormente, los participantes estuvieron expuestos durante 2 horas a condición ambiental controlada adversa: 23°C y 10% de humedad relativa. Tras estas 2 horas, se realizaron las pruebas clínicas. La siguiente visita se planificó entre 2 y 7 días después.

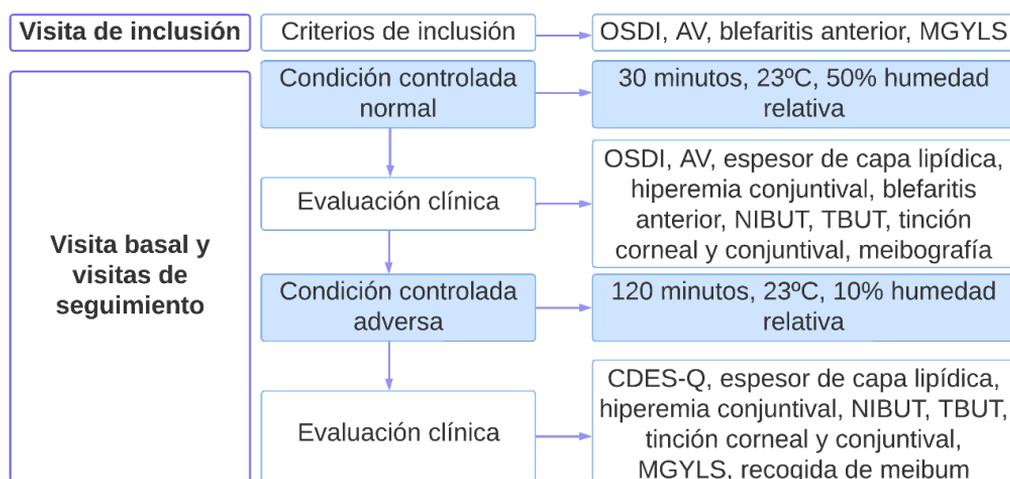


Figura 6.1. Esquema del diseño del estudio. OSDI = *ocular surface disease index*, AV = agudeza visual, MGYLS = *meibomian gland yielding liquid secretion*, NIBUT = *non-invasive break up time*, TFBUT = *tear break-up time*, CDES-Q = *change in dry eye symptoms questionnaire*.

Visita de aplicación de LipiFlow®

Los sujetos acudieron a la visita sin haber utilizado lágrimas artificiales durante las 4 horas previas a la misma. Se les aplicó el LipiFlow® según el protocolo estandarizado por la casa comercial. Se instilaron dos gotas de Colirofta anestésico doble (tetracaína hidrocloreuro 0,1% y oxibuprocaína hidrocloreuro 0,4%; Alcon Healthcare, S.A., Cornellà

de Llobregat, Barcelona, España) en cada ojo y se les adaptó el Activador.⁷³ Se trata de una pieza estéril de un solo uso que cubre el párpado del paciente. Esta pieza emite calor y masajea la parte externa de los párpados.²³⁸ Se pidió a los sujetos que mantuvieran los ojos cerrados durante los 12 minutos de duración del tratamiento. Al finalizar, el examinador retiró los activadores.²⁵⁹

Visitas de seguimiento tras aplicación de LipiFlow® a los 3, 6 y 12 meses

Los participantes acudieron a la visita sin haber utilizado lágrimas artificiales durante las 4 horas previas a la misma. Fueron evaluados tras haber permanecido 30 minutos en una condición ambiental controlada normal (23°C y 50% de humedad relativa). Inmediatamente después, permanecieron 2 horas a una condición ambiental controlada adversa (23°C y 10% de humedad relativa) y se realizaron las pruebas clínicas.

6.2.2. Evaluación clínica

6.2.2.1. *Síntomas*

Questionario *Ocular Surface Disease Index (OSDI)*

Se utilizó para evaluar la sintomatología ocular de los sujetos, considerando sintomáticos aquellos con una puntuación mayor o igual a 13 (Apéndice 6.3, acceso desde el código QR).^{299,300}

Questionario *Change in dry eye symptoms questionnaire (CDES-Q)*

Los cambios en los síntomas (mejoría o empeoramiento) tras 2 horas de exposición a la condición ambiental adversa,^{78,79,292,361,362} se evaluaron con el CDES-Q.⁹³ en primer lugar, se preguntó al paciente si se encontraba mejor, peor o igual comparando con los 30 minutos previos

bajo la condición ambiental normal (CDES-Q-1). Si su respuesta era mejor o peor, debía cuantificar esa mejoría o empeoramiento en una escala de 0 a 10, donde 0 significaba ‘ligeramente mejor o peor’ y 10, ‘extremadamente mejor o peor’ (CDES-Q-2).⁹³

Escala visual analógica (EVA), síntoma: sequedad

El paciente indicó en una línea horizontal con una marca el grado de sequedad ocular tras 2 horas de exposición a la condición ambiental adversa. La línea horizontal medía 100 mm y estaba marcada cada centímetro con una marca vertical numerada del 0 al 10. El 0 indicaba que la sequedad ocular era extremadamente baja, y 10 el que era extremadamente alta, y los puntos de la línea comprendidos entre ambos extremos indicaban cualquier otra valoración intermedia.³⁶³

6.2.2.2. *Signos*

Medida de la agudeza visual (AV)

Para la medida de la AV monocular se utilizó una pantalla ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*, Topcon CO LDT, Tokio, Japón), a una distancia de 4 metros con un contraste del 100%. Esta variable se escogió como variable de seguridad.

Medida del espesor de la capa lipídica de la película lagrimal

Se utilizó el interferómetro Lipiview II. Se anotó el valor de espesor de la capa lipídica en nm.³⁰¹

Evaluación de la hiperemia conjuntival

Se valoró con la lámpara de hendidura utilizando luz blanca y 16 aumentos según la escala Efron³⁰² para la conjuntiva bulbar, de 0 (no hiperemia) a 4 (hiperemia severa).

Evaluación del grado de blefaritis anterior

Se evaluó la presencia de signos inflamatorios asociados a blefaritis anterior (telangiectasias, engrosamiento y regularidad del borde palpebral), mediante lámpara de hendidura con luz blanca a aumentos medios (16 – 25), en los párpados de 0 (ninguno), 1 (leves), 2 (medios), 3 (moderados), a 4 (abundantes y severos) según la escala Efron.³⁰²

Tiempo de ruptura lagrimal no invasivo (NIBUT)

Se utilizó el instrumento Easy Tear View+. Para ello, se proyectó sobre la superficie anterior de la córnea la retícula luminosa del aparato. Se pidió al sujeto que parpadeara tres veces y que mantuviera el ojo abierto sin parpadear hasta que se le avisara. Se anotó el tiempo transcurrido desde que el sujeto dejó de parpadear hasta que la imagen reflejada se deformara, indicando una discontinuidad en la PL. Se tomaron 3 medidas y se anotó la media.³⁶⁴

Tiempo de ruptura lagrimal con fluoresceína (TFBUT)

Se instilaron 5 µl al 2% de fluoresceína sódica con una pipeta en la conjuntiva bulbar inferior. Se observó el patrón de la PL a través de la lámpara de hendidura con luz azul cobalto y a través del filtro amarillo Wratten no. 12 filter. Se realizaron tres medidas, siendo el valor final la media de las tres.⁷⁸

Evaluación de tinción corneal con fluoresceína

Se evaluó 2 minutos después de instilar 5 µl al 2% de fluoresceína sódica en la conjuntiva nasal inferior. Se examinó la SO a 16 aumentos y luz azul cobalto de la lámpara de hendidura, y a través de un filtro amarillo. La extensión de la tinción corneal con fluoresceína se calificó de 0 a 4 según la escala CCLRU.³⁰³

Evaluación de tinción conjuntival con verde de lisamina

Se evaluó 2 minutos después de instilar verde de lisamina en tira oftálmica, previamente humedecida con 25 µl de suero salino durante 5 segundos,¹⁹³ en la conjuntiva bulbar inferior. Se evaluó la tinción conjuntival según la escala Oxford, de 0 (no tinción) a 5 (tinción severa).³⁰⁵

Evaluación del porcentaje de pérdida de GM mediante meibografía

Se realizó con el interferómetro Lipiview II. El análisis de las imágenes obtenidas por meibografía se llevó a cabo mediante el software *Image J*.⁴¹ Para cuantificar el grado de pérdida de GM, se dividió el área que ocupaban las glándulas entre el área total del párpado.^{41,365} Un observador enmascarado realizó el análisis de las imágenes de forma aleatorizada.

Después de la exposición a la condición ambiental adversa, además del cuestionario CDES-Q, se evaluó de nuevo el espesor de capa lipídica de la PL, la hiperemia conjuntival, NIBUT, TFBUT, la tinción corneal y la tinción conjuntival.

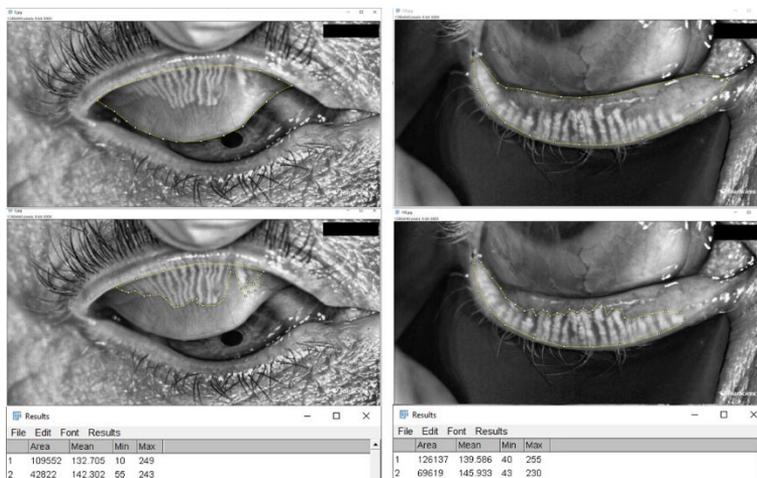


Figura 6.2. Análisis de la pérdida de glándulas de Meibomio con *Image J*. A la izquierda se observan las imágenes del párpado superior y a la derecha del párpado inferior. En las imágenes superiores se delimita por la línea amarilla el área total del párpado, mientras que en las inferiores se delimita el área que ocupan las glándulas de Meibomio. El área de pérdida en píxeles se obtiene al restar el área de glándulas del área total del párpado.

Evaluación de la expresión de las GM

Se utilizó el instrumento MGE. Dicho instrumento aplicaba una presión constante de $1,25\text{g/gmm}^2$ sobre 15 glándulas del párpado inferior simultáneamente, durante 10 – 15 segundos. Este procedimiento se repitió en los 3 tercios del párpado inferior (nasal, central y temporal). La expresión de las GM se midió con la escala MGYLS. Cada una de las 15 GM se graduaban como 3 (expresión clara y líquida), 2 (expresión media y líquida), 1 (expresión opaca) y 0 (no expresión). La suma total variaba de 0 a 45 (Figura 6.3 y Figura 6.4).⁷⁰

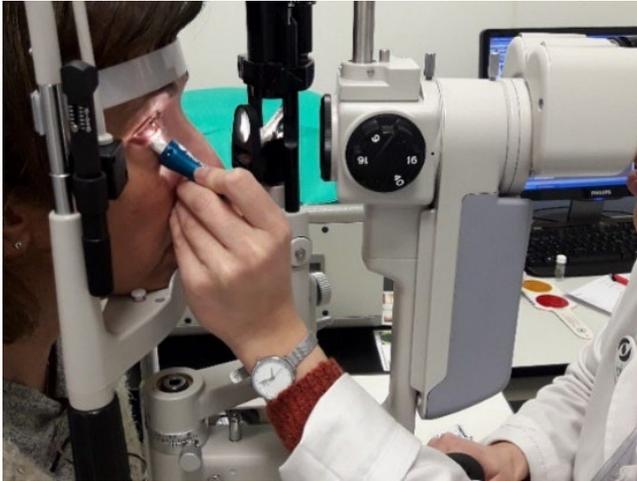


Figura 6.3. Evaluación de la expresión de las glándulas de Meibomio con el *Meibomian gland evaluator*. Fuente: Grupo de Superficie Ocular del IOBA.

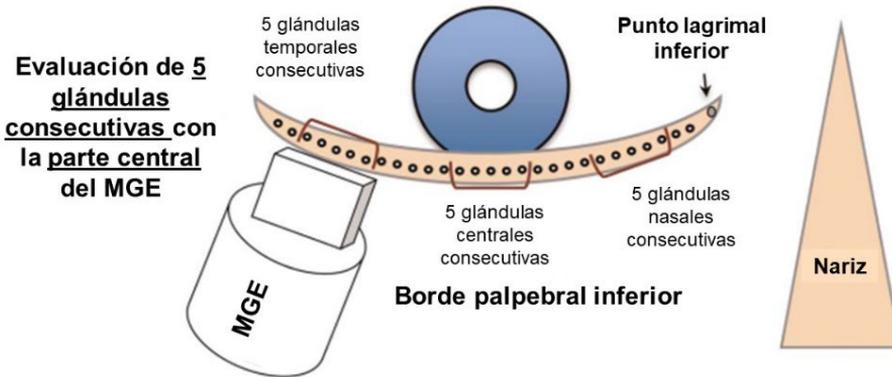


Figura 6.4. Graduación de la secreción de las glándulas de Meibomio con el *Meibomian Gland Evaluator* y de acuerdo con la escala *Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion* score. Se evalúan 5 glándulas del tercio nasal, central y temporal. A cada una de ellas se le anota una puntuación de 3 (expresión clara y líquida), 2 (expresión media y líquida), 1 (expresión opaca) y 0 (no expresión). La suma total es 0 – 45. Imagen adaptada de Lane SS *et al.* *A new system, the LipiFlow, for the treatment of meibomian gland dysfunction*. *Cornea*. 2012 Apr;31(4):396-404. Número de licencia: 5490140560313.

Recogida de meibum lagrimal

Tras evaluar la expresión de las GM con el MGE, se utilizó un capilar lagrimal de 10 μl para recoger la máxima cantidad posible meibum del borde palpebral inferior de ambos ojos (Figura 6.5). Posteriormente, la



muestra fue almacenada a -80°C para realizar el análisis de su composición utilizando la técnica de resonancia magnética nuclear de ^1H .

Figura 6.5. Recogida de meibum con un microcapilar tras aplicar presión digital en el borde palpebral.

Esta técnica permite identificar los compuestos químicos de la muestra sin destruirla. Para ello, se utiliza una radiación con un amplio pulso de radiofrecuencia para excitar todos los núcleos de los átomos que componen la muestra con un campo magnético. Los núcleos excitados re-emiten la radiación con una determinada frecuencia de resonancia que permite identificar el compuesto.³⁶⁶ El objetivo fue evaluar los cambios en la composición del meibum tras el tratamiento con Lipiflow®.

Este análisis se realizó en el Instituto Universitario Centro de Innovación en Química y Materiales Avanzados gracias a la colaboración del Grupo de Investigación Reconocida de Moléculas Inorgánicas y Organometálicas con Metales de Transición, perteneciente al departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid.

Satisfacción con el tratamiento

En la visita de aplicación, se preguntó a los sujetos por su satisfacción durante el tratamiento con una EVA. La línea horizontal medía 10 cm y estaba marcada cada centímetro con una marca vertical numerada del 0 al 10. El 0 indicaba que la satisfacción era extremadamente baja, y 10 una extremadamente alta, y los puntos de la línea comprendidos entre ambos extremos indicaban cualquier otra valoración intermedia.³⁶³

6.2.3. Análisis estadístico

El tamaño muestral fue calculado en base a datos propios con respecto al TFBUT,²⁹⁵ considerando como clínicamente relevante una diferencia de 2 segundos en TFBUT. Utilizando el test estadístico T-Student para dos muestras pareadas que detecte un efecto grande (índice d de Cohen = 0.8) con una potencia del 80% y un nivel de significación de 0,05; el mínimo tamaño muestral necesario fue de 15 individuos. Considerando un 7% de sujetos que no finalizaran el estudio y un 15% que necesitaran repetir el tratamiento tras un año de seguimiento,⁷⁴ el número de sujetos a incluir fue de 20 participantes. Se evaluaron ambos ojos y se analizó estadísticamente el valor medio. Para el análisis de las meibografías se seleccionó un ojo de forma aleatoria.

Se tomó como variable primaria para evaluar la eficacia del tratamiento el TFBUT entre la visita antes de la aplicación de LipiFlow® y la visita de seguimiento 3 meses después, medido en la condición ambiental controlada normal, aunque también se evaluó a los 6 y 12 meses de seguimiento. Como variable secundaria se utilizó el MGYLS,

medido en todas las visitas de seguimiento, aunque se utilizó la visita de los 12 meses para medir la eficacia del tratamiento. La AV se evaluó en todas las visitas como variable de seguridad. Para la variable primaria, se comparó el TFBUT de la visita basal con la visita a los 3 meses de seguimiento en la condición ambiental normal mediante el contraste de Wilcoxon. Para la variable secundaria, se evaluó el MGYLS utilizando modelos lineales mixtos, incluyendo el efecto del tiempo y de las condiciones ambientales como factores. Los modelos calculados asumen las condiciones de homocedasticidad, normalidad y linealidad, comprobadas mediante el análisis de los residuos. También se evaluó la presencia de valores anómalos en los residuos. La variable de seguridad AV se evaluó de la misma forma que el MGYLS.

Para analizar los valores del CDES-Q, se comparó el porcentaje de sujetos que se sintieron mejor, peor o igual tras la exposición de 2 horas a la condición ambiental adversa, a los 3, 6 y 12 meses, con el resultado de la visita basal, utilizando el test de McNemar.

Las variables cuantitativas (OSDI, CDES-Q, AV, espesor de capa lipídica, NIBUT, TFBUT, tinción corneal, porcentaje de pérdida de GM, y MGYLS) se expresan en valores medios e IC al 95%. Para estas variables se ajustaron modelos lineales mixtos. En aquellas variables medidas en ambas condiciones ambientales (espesor de capa lipídica, NIBUT, TFBUT y tinción corneal), se añadió al modelo el efecto de la exposición ambiental. En ese caso, y a partir del test de razón de verosimilitudes, se decidió entre el modelo aditivo (que no tiene en cuenta la interacción tiempo y exposición), y el modelo completo. Se consideró el modelo completo cuando el p valor del test fue menor que 0,1. Para

cuantificar y describir cada efecto incluido en el modelo, se estimaron las medias marginales (*Least Squares Means*) y sus diferencias, junto con intervalos de confianza y p-valores. Se compararon los niveles 2 a 2 utilizando el método de Tukey para el ajuste de comparaciones múltiples. En el caso del modelo con interacción, se interpretó el efecto de dicha interacción. Se evaluó la asunción de linealidad de la relación entre el predictor y la respuesta, la homocedasticidad de la varianza, y la normalidad de los residuos.

Las variables cualitativas (hiperemia conjuntival, grado de blefaritis, tinción conjuntival) se expresan en mediana e IQR. Para estas variables se utilizaron modelos mixtos *logit* acumulados. Se utilizó la aproximación de Laplace para obtener la máxima probabilidad estimada, calculada como *odds-ratio*. En todos los modelos ajustados se utilizó el test de razón de verosimilitudes para contrastar el efecto de la interacción, en los mismos términos que para las variables cuantitativas.

El análisis se llevó a cabo con el paquete estadístico R, estableciendo un nivel de significación del 5%. Los modelos lineales mixtos se calcularon con el paquete *lme4 R package*,³⁶⁷ y los modelos acumulativos con el paquete *ordinal package*.³⁶⁸

Finalmente, el análisis de la composición del meibum se realizó de forma separada para el colesterol y la cera éster insaturada, las dos sustancias mayoritariamente detectadas, dividiendo a los sujetos en 2 grupos en base a la detección de cada compuesto, colesterol y cera éster insaturada, en las visitas basal y el resto de las visitas, resultando un total de 4 grupos: A = colesterol detectado, B = colesterol no detectado, C = cera éster insaturada detectada y D = cera éster insaturada no detectada.

Se analizaron las diferencias entre grupos para las siguientes variables clínicas: tinción corneal, tinción conjuntival, MGYLS, grado de blefaritis anterior y cuestionario OSDI; utilizando el estadístico T-Student para las variables que cumplieron la hipótesis de normalidad, y U de Man-Whitney para el resto. Para este análisis se utilizó el programa SPSS, versión 26.

6.3. Resultados

6.3.1. Descriptivos

Se reclutaron inicialmente 27 participantes, sin embargo, dos de ellos no cumplían con los criterios de inclusión del estudio, por lo que no fueron incluidos. Además, otros dos participantes abandonaron el estudio en la visita 3, y dos más no completaron la visita 5. El análisis se realizó con los 21 participantes que completaron todas las visitas del estudio (Figura 6.6).

Participaron 17 mujeres y 4 hombres, con una media de edad de 59,62 (IC 95%: 55,34 – 63,9), rango 30 – 76 años. En la visita de inclusión, la AV fue 0,02 (IC 95%: (-0,03) – 0,07), rango (-0,16) – 0,25 unidades logMAR; el valor del OSDI fue 47,93 (IC 95%: 35,68 – 60,19), rango 15,63 – 100; el MGYLS fue 9,88 (IC 95%: 9,28 – 10,48), rango 7 – 12, y el grado de blefaritis anterior fue 2 [IQR: 1], rango 1 – 3.

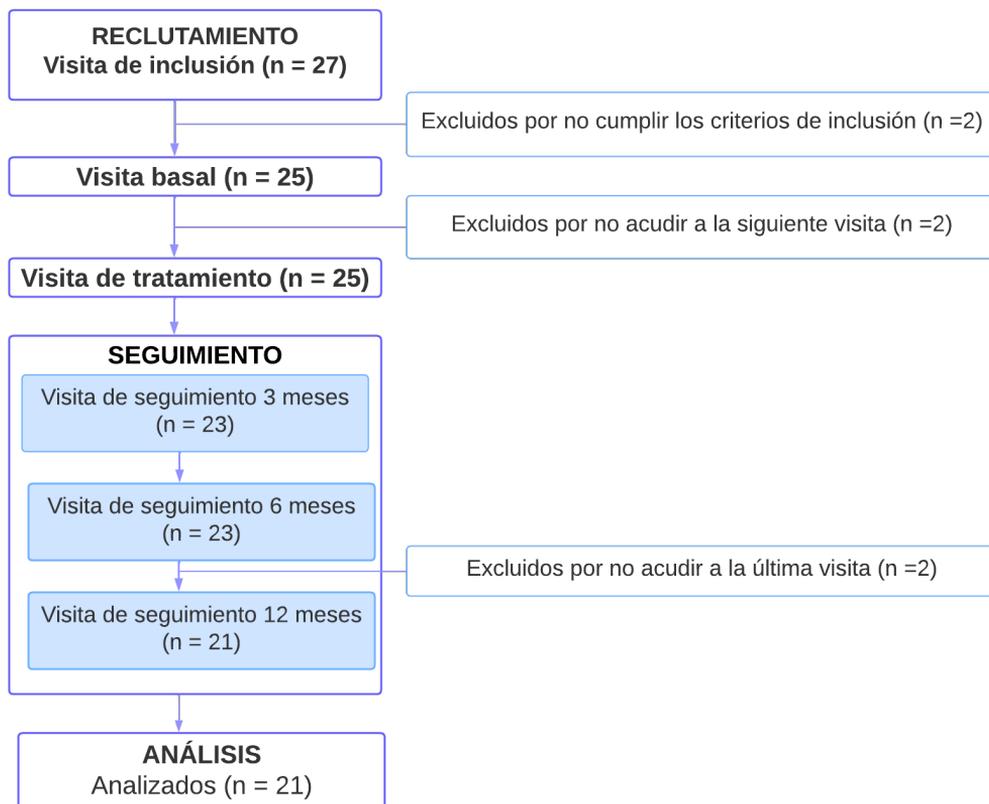


Figura 6.6. Número de pacientes reclutados y número final de sujetos que finalizaron el estudio.

6.3.2. Evaluación clínica

Ni el tiempo ($p > 0,05$) ni las condiciones ambientales ($p = 0,116$) tuvieron un efecto significativo en la variable primaria TFBUT. Sin embargo, hubo un aumento significativo del MGYLS entre la visita basal y las visitas de seguimiento. No hubo diferencias significativas en la AV entre las visitas. El valor medio de satisfacción con el tratamiento fue de 8,2 (rango 5 – 10), y no se notificaron efectos adversos relacionados con el dispositivo. Los valores se recogen en la Tabla 6.1.

6.3.2.1. Síntomas

Los valores se recogen en la Tabla 6.2. De acuerdo con el modelo, en el cuestionario OSDI, el efecto del tiempo tras el tratamiento con LipiFlow® fue estadísticamente significativo ($p = 0,008$). En concreto, hubo un descenso de 14 puntos en la sintomatología entre la visita basal y la visita de seguimiento a los 12 meses ($p = 0,003$).

Tras 2 horas de exposición al ambiente adverso, las diferencias entre el porcentaje de sujetos que se encontraron peor en la visita inicial y las visitas de seguimiento no fueron significativas (CDES-Q-1 visita basal frente a visita 3 meses $p = 0,375$; frente a 6 meses $p = 0,07$ y frente a 12 meses $p = 0,289$). No hubo diferencias significativas en CDES-Q-2. Finalmente, hubo una disminución al borde de la significación en el grado de sequedad medido con la EVA entre la visita basal y la visita de seguimiento a los 6 meses (3 meses $p = 0,37$; 6 meses $p = 0,07$ y 12 meses $p = 0,91$).

Tabla 6.1. Valores medios de las variables primaria, secundaria y de seguridad.

Variable Media (IC 95%)	Condición ambiental adversa	Visita basal	3 meses	6 meses	12 meses
TFBUT (segundos)	Antes	4,2 (3,3 – 6,1)	5,4 (2,1 – 8,8)	4,2 (2,4 – 6,0)	4,3 (2,0 – 6,7)
	Después	3,3 (2,4 – 4,6)	3,1 (2,3 – 4,0)	3,5 (2,8 – 4,2)	5,4 (2,2 – 8,7)
MGYLS (0 – 45)	Después	10,3 (9,6 – 11,0)	11,6* (11,1 – 12,3)	12,4** (11,4 – 13,5)	12,2*** (11,2 – 13,2)
AV (1 – (-0,3))	Antes	0,02 (-0,02) – 0,06	-0,01 (-0,05) – 0,04	0 (-0,04) – 0,04	0 (-0,06) – 0,05

IC: intervalo de confianza, TFBUT = *tear fluorescein break up time*, MGYLS = *meibomian gland yielding liquid secretion*, AV = agudeza visual. Comparación con la visita basal, test post-hoc de Tukey: *p = 0,008, **p < 0,001, ***p = 0,001.

Tabla 6.2. Resultados de los síntomas.

Cuestionario		Visita basal	3 meses	6 meses	12 meses
OSDI (0 – 100)		43 (32,1 – 53,9)	35,5 (24,7 – 43,3)	35,2 (24,6 – 45,8)	29 (18,9 – 22,2)*
CDES-Q-1 (% de sujetos)	Mejor o igual	52,4	66,7	81	71,4
	Peor	47,6	33,3	19	28,6
CDES-Q-2 (0 – 10) Media (IC 95%)	Mejor	6,7 (5,7 – 7,7)	5,7 (3,5 – 7,9)	6,0 (3,9 – 8,1)	6,6 (4 – 9,2)
	Peor	4,5 (6,4 – 2,5)	3,8 (5,2 – 2,3)	5,5 (12,1 – 1,1)	4,4 (7,8 – 1)
EVA (0 – 10) Media (IC 95%)	Sequedad	5,4 (4,5 – 6,2)	4,3 (3,3 – 5,4)	3,7 (2,5 – 5)	4,9 (3,5 – 6,4)

OSDI = *Ocular Surface Disease Index*, CDES-Q-1 = *change in dry eye symptoms questionnaire 1* (rango: mejor, peor, o igual); CDES-Q-2 = *change in dry eye symptoms questionnaire 2* (rango: 0 – 10); IC = intervalo de confianza. EVA = escala visual analógica. *Comparación con la visita basal, $p = 0,003$, test de Tukey.

6.3.2.2. Signos

Los valores se recogen en la Tabla 6.3 y en la Figura 6.4. Con respecto al espesor de capa lipídica de la PL, no hubo diferencias significativas entre visitas bajo la condición ambiental normal (modelo lineal mixto, $p = 0,29$). Sin embargo, la exposición a la condición ambiental adversa sí tuvo un efecto significativo (modelo lineal mixto, $p < 0,001$). El modelo estimó una disminución de 6,5 nm en el espesor de capa lipídica cuando los sujetos estaban expuestos a 2 horas de condiciones ambientales adversas.

Para la hiperemia conjuntival, ni el tiempo ni las condiciones ambientales tuvieron un efecto significativo ($p = 0,104$ y $p = 0,838$, respectivamente).

El tiempo tuvo un efecto significativo ($p < 0,001$) en el grado de blefaritis anterior. En concreto, los valores de las visitas de seguimiento a los 6 y 12 meses fueron menores que los valores de la visita basal ($p = 0,01$ y $p = 0,001$, respectivamente). Las *odds-ratio* estimadas a los 6 y 12 meses fueron 0,08 (IC 95%: 0,01 – 0,58) y 0,008 (IC 95%: 0,0006 – 0,14), respectivamente. Esto implica que el riesgo de tener una blefaritis anterior un punto más severo en la visita inicial fue 12,5 (1/0,08) y 125 (1/0,008) veces mayor que en las visitas de los 6 y 12 meses respectivamente.

El valor del NIBUT en la visita de seguimiento a los 3 meses fue mayor en la condición ambiental normal que en la condición adversa ($p = 0,004$), no encontrando diferencias en el resto de las visitas (6 meses $p = 0,693$; 12 meses $p = 0,982$).

Para la tinción corneal con fluoresceína, la interacción entre el tiempo y las condiciones ambientales no fue significativa ($p = 0,49$). Sin embargo, tanto el tiempo ($p < 0,001$), como las condiciones ambientales ($p = 0,017$) tuvieron un efecto significativo de forma separada, de acuerdo con el modelo lineal mixto. La tinción corneal disminuyó significativamente en cada visita (3 meses: $p = 0,001$; 6 meses: $p < 0,001$; 12 meses: $p < 0,001$; Figura 6.7). Además, el descenso entre la visita de los 3 y los 12 meses también fue significativo ($p = 0,031$; Figura 6.3). En relación con la condición ambiental adversa, el modelo mostró un aumento de la tinción corneal en todas las visitas tras 2 horas de exposición ($p = 0,017$).

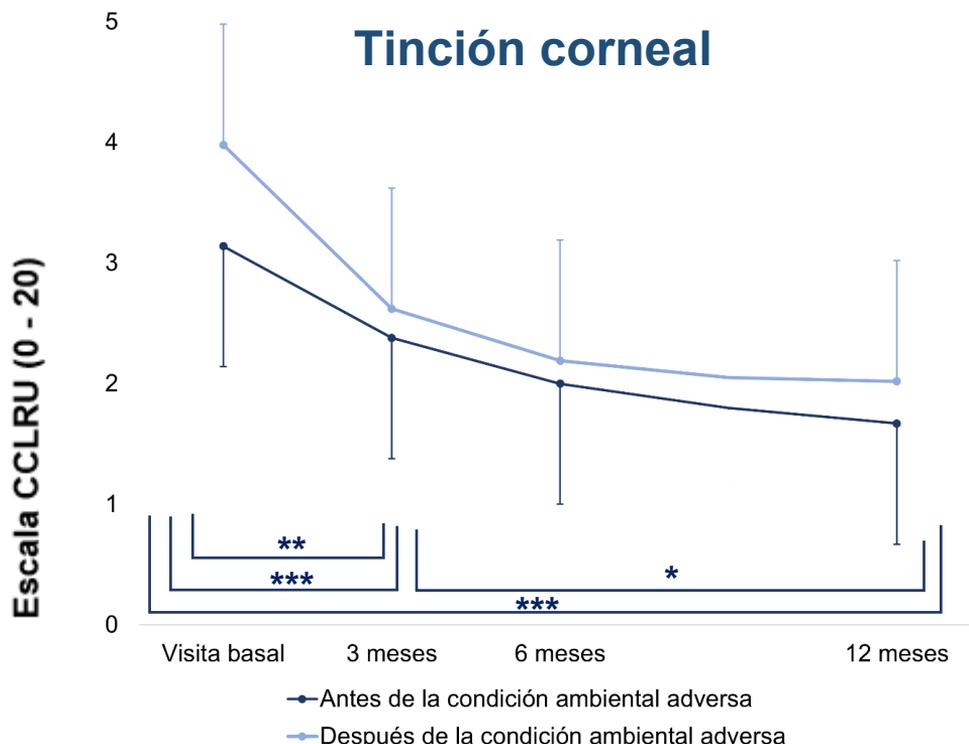
La tinción conjuntival disminuyó a los 6 y 12 meses ($p = 0,001$ y $p < 0,001$, respectivamente) comparado con la visita basal. En concreto, la *odds-ratio* para el aumento de una unidad en la tinción conjuntival a los 6 y 12 meses fue 0,22 (IC 95%: 0,09 – 0,51) y 0,06 (IC 95%: 0,02 – 0,17), respectivamente. Es decir, la probabilidad de disminuir una unidad en la tinción conjuntival a los 6 y 12 meses fue 4,54 y 16,66 veces, respectivamente. Por el contrario, la condición ambiental no tuvo un efecto significativo ($p = 0,54$).

Con respecto a la morfología de las GM, no se encontraron diferencias significativas en el grado de pérdida de GM entre visitas, ni en el párpado superior ($p = 0,32$), ni en el inferior ($p = 0,24$).

Tabla 6.3. Resultados de los signos.

Variable	Condición ambiental adversa	Visita basal	3 meses	6 meses	12 meses
Espesor de capa lipídica (nm)	Antes	85,5 (79,8 – 91,5)	84,2 (78,7 – 89,7)	81,1 (75,6 – 86,5)	80,9 (74,5 – 87,3)
	Después	78,5* (72,9 – 84,0)	77,2* (72,4 – 81,9)	75,5* (70,1 – 80,9)	74,8* (69,8 – 79,8)
Hiperemia conjuntival (0 – 4)	Antes	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1 [1]
	Después	1 [1]	2 [1]	1 [1]	1 [1]
Blefaritis anterior (0 – 4)	Antes	2 [0]	2 [1]	1** [1]	1*** [0]
NIBUT	Antes	10,6 (7 – 14,3)	12,2 (7,8 – 16,6)	9 (6,6 – 11,4)	9,6 (7,2 – 12)
	Después	9,8 (6,5 – 13)	6,8* (5,6 – 7,9)	8,2 (4,5 – 12)	8,6 (7 – 10,3)
Tinción conjuntival	Antes	2 [2]	1 [3]	0** [2]	0*** [0]
	Después	2 [2]	1 [3]	1 [1]	0 [1]
Pérdida de GM (%)	Superior	17,7 (10,8 – 24,6)	20,0 (13,9 – 26,0)	17,7 (11,9 – 23,5)	19,1 (13,0 – 25,3)
	Inferior	4,3 (1,3 – 7,2)	7,8 (2,3 – 13,3)	11,3 (2,8 – 19,8)	6,4 (1,6 – 22,2)

Nm: nanómetros. GM: glándulas de Meibomio. Valores de espesor de capa lipídica, NIBUT y pérdida de GM como media (intervalo de confianza al 95%). Valores de hiperemia conjuntival, grado de blefaritis anterior y tinción conjuntival como mediana (rango intercuartílico). Comparación antes-después de la exposición, *p < 0,001. Comparación con la visita basal **p = 0,01; ***p ≤ 0,001.



	Visita basal	3 meses	6 meses	12 meses
Antes	3,14 (1,88 – 4,41)	2,38 (1,52 – 3,24)	2 (0,85 – 3,15)	1,67 (0,87 – 2,46)
Después	3,98 (2,96 – 5)	2,62 (1,83 – 3,42)	2,19 (1,3 – 3,09)	2,02 (1,2 – 2,84)

Figura 6.7. Tinción corneal con fluoresceína de acuerdo con la escala *Cornea and Contact Lens Research Unit* (CCLR) en la visita basal y las visitas de seguimiento a los 3, 6 y 12 meses, antes y después de la condición ambiental adversa. Los valores se representan con la media y las barras de error representan el intervalo de confianza al 95%. Las barras azules oscuro representan los valores en la condición ambiental normal; *p = 0,031, **p = 0,001, ***p < 0,001. La exposición a la condición adversa tuvo un efecto estadísticamente significativo (p = 0,017) negativo en la tinción corneal, en todas las visitas. La interacción entre el efecto del tiempo y las condiciones ambientales no fue significativa (p = 0,49).

6.3.3. Composición del meibum

6.3.3.1. *Descriptivos*

En la composición del meibum, se detectó colesterol y cera éster insaturada, pero se observaron dos comportamientos diferentes, dividiendo a los sujetos en 4 grupos (Figura 6.8) en base a la detección de colesterol y cera éster insaturada en las visitas basal y el resto de las visitas. En un grupo de sujetos se detectó el colesterol en la visita basal, pero no se detectó en el resto de las visitas; mientras que en otro grupo no fue detectado en ninguna visita. Este comportamiento se observó también en la cera éster insaturada.

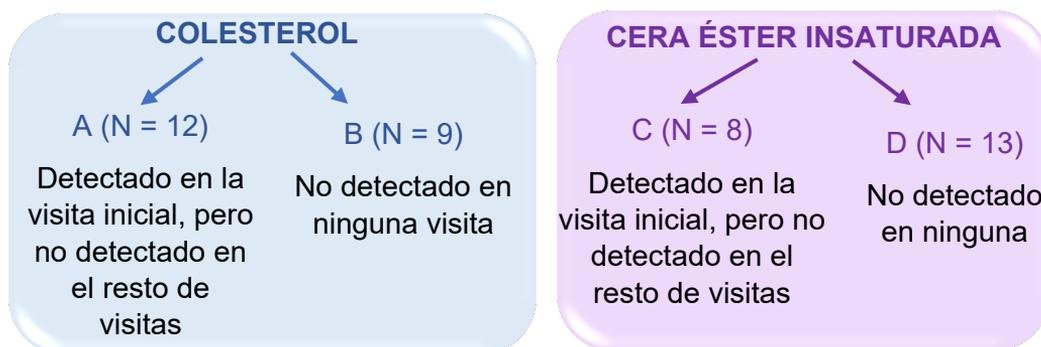


Figura 6.8. Distribución de los sujetos en grupos.

El grupo A estaba formado por 11 mujeres y 2 hombres, con una edad media de 60,23 (IC 95%: 56,53 – 63,93), rango: 46 – 71 años; mientras que el grupo B estaba formado por 6 mujeres y 2 hombres, con una media de edad de 58,63 (IC 95%: 47,2 – 70,05), rango: 30 – 76 años. El grupo C estaba formado por 6 mujeres y 2 hombres, con una edad media de 60,88 (IC 95%: 54,45 – 67,3), rango: 46 – 71 años; y el grupo

D estaba formado por 11 mujeres y 2 hombres, con una media de edad de 58,85 (IC 95%: 52,47 – 65,23), rango: 30 – 76 años. Los valores de las pruebas clínicas correspondientes a la visita de inclusión se muestran en la Tabla 6.4.

Tabla 6.4. Valores por grupos de la visita de inclusión.

Grupo	OSDI (0 – 100)	MGYLS (0 – 45)	Grado de blefaritis anterior (0 – 45)
A	47,3 (32,4 – 62,3)	9,2 (7,6 – 11)	1,5 [1]
B	48,9 (22,3 – 75,5)	9,9 (9,1 – 10,8)	2 [2]
C	56,0 (35,2 – 76,7)	8,5 (5,7 – 11,3)	2 [1]
D	43,0 (26,1 – 59,9)	10,1 (9,5 – 10,7)	2 [1]

OSDI: *ocular surface disease index*, MGYLS: *meibomian gland yielding liquid secretion score*, A: colesterol detectado en la visita basal, B: colesterol no detectado, C: cera éster insaturada detectada en la visita basal, D: cera éster insaturada no detectada. OSDI y MGYLS se expresan como media e intervalo de confianza al 95%, el grado de blefaritis anterior se expresa como mediana y rango intercuartílico.

6.3.3.2. Parámetros clínicos

En el caso del colesterol, la tinción corneal fue mayor en el grupo A respecto al grupo B en la visita basal: A = 4,15 (IC 95%: 2,3 – 6,01); B = 1,5 (IC 95%: 0,69 – 2,31), $p = 0,011$; y a los 3 meses de seguimiento: A = 3,12 (IC 95%: 1,94 – 4,29); B = 1,19 (IC 95%: 0,3 – 2,08), $p = 0,009$; Figura 6.9. En el caso de la cera éster insaturada, la tinción corneal también fue mayor en la visita basal en el grupo C respecto al grupo D: C = 4,5 (IC 95%: 1,94 – 7,06); D = 2,13 (IC 95%: 0,97 – 3,28), $p = 0,041$; Figura 6.9. En el resto de las visitas no hubo diferencias significativas.

La tinción conjuntival, en el caso del colesterol, fue mayor en el grupo A respecto al grupo B, a los 3 meses de seguimiento (A: 3 [4]; B: 0,75 [1];

p = 0,015), Figura 6.10. En el caso de la cera éster insaturada, no hubo diferencias significativas, Figura 6.10.

No hubo diferencias entre grupos en el grado de blefaritis anterior, ni en la calidad del meibum, ni en la sintomatología (Tabla 6.5).

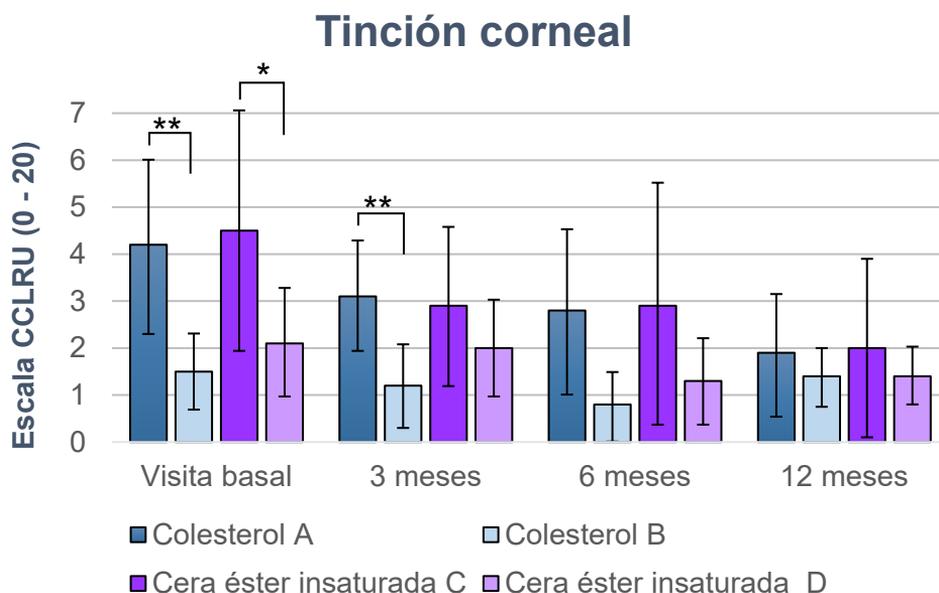


Figura 6.9. Valores de tinción corneal con fluoresceína escala *Cornea and Contact Lens Research Unit*. A, C: detectado; B, D: no detectado. *p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01.

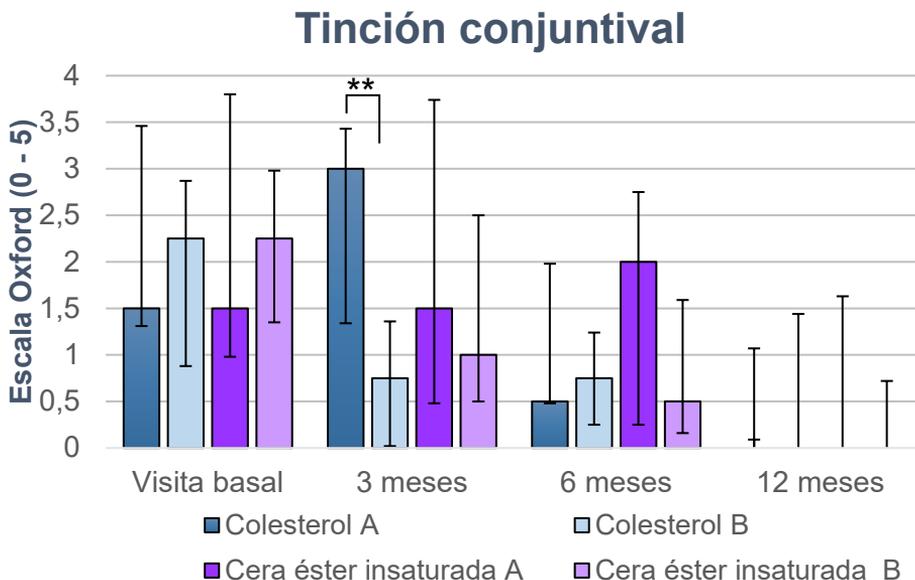


Figura 6.10. Valores de tinción conjuntival con verde de lisamina escala Oxford. A, C: detectado; B, D: no detectado. *P < 0,05.

Tabla 6.5. Valores por grupos de OSDI, MGYLS y grado de blefaritis anterior en todas las visitas.

Prueba	Grupo	Visita basal	P valor	3 meses	P valor	6 meses	P valor	12 meses	P valor
OSDI Media (IC 95%)	A	44,5 (31,3 – 57,8)	0,723	37 (22,2 – 51,8)	0,733	39,8 (25,3 – 54,4)	0,255	28,5 (17,4 – 39,6)	1
	B	40,6 (16,9 – 64,3)		33,2 (13,4 – 53)		27,7 (10,1 – 45,3)		30 (5,7 – 54)	
	C	49,5 (32,9 – 66)	0,148	37,8 (20,6 – 54,9)	0,721	39,9 (21,3 – 58,4)	0,441	27,4 (14 – 40,8)	
	D	38,2 (22 – 54,5)		33,9 (17,7 – 50,1)		31,7 (17,1 – 46,3)		30,2 (13,7 – 46,7)	
MGYLS Media (IC 95%)	A	10,2 (9,1 – 11,3)	0,798	11,3 (10,5 – 12)	0,089	11,7 (11 – 12,5)	0,162	11,7 (10,8 – 12,7)	0,281
	B	10,4 (9,5 – 11,3)		12,3 (11,1 – 13,5)		13,6 (10,8 – 16,4)		13 (10,6 – 15,4)	
	C	10,2 (8,6 – 11,8)	0,921	11,2 (10,3 – 12)	0,150	11,2 (10,8 – 12,6)	0,202	12,1 (10,7 – 13,4)	
	D	10,3 (9,6 – 11)		12 (11,1 – 13)		13 (11,2 – 15)		12,3 (10,7 – 14)	
Grado de blefaritis anterior Mediana [IQR]	A	2 [1]	0,381	1 [1]	0,387	1 [0]	0,056	1 [0]	0,056
	B	2 [0]		2 [1]		1,5 [1]		1,5 [1]	
	C	2 [2]	1	1 [1]	0,080	1 [0]	0,159	1 [0]	
	D	2 [0]		2 [1]		1,25 [1]		1,25 [1]	

OSDI: *ocular surface disease index*, MGYLS: *meibomian gland yielding liquid secretion score*, IC: intervalo de confianza, IQR: rango intercuartílico, A: colesterol detectado en la visita basal, B: colesterol no detectado, C: cera éster insaturada detectada en la visita basal, D: cera éster insaturada no detectada.

6.4. Discusión

El tratamiento con LipiFlow® se ha convertido en un tratamiento de elección para los pacientes con DGM,^{74,254,369} y puede ser de utilidad especialmente para aquellos que pasan la mayor parte de su tiempo en lugares cerrados, con una temperatura alta, una humedad relativa baja y/o flujos de aire. Estas condiciones pueden tener efectos negativos en la PL y desencadenar una exacerbación de los signos y síntomas de la EOS, no solo en el contexto de la enfermedad, sino también en personas sanas y en usuarios de LC.^{76,362} Por esta razón, el objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de LipiFlow® en dos condiciones ambientales controladas: en primer lugar, bajo la condición ambiental normal y, en segundo lugar, bajo la condición ambiental adversa, para determinar si esta terapia tiene además un efecto profiláctico en ambientes adversos.

La medida de AV se incluyó en el estudio como variable de seguridad. Dado que no se observaron diferencias significativas entre las visitas y hubo ningún efecto adverso, se puede considerar que el dispositivo LipiFlow® es seguro para el tratamiento de la DGM.

Para llevar a cabo el estudio se seleccionaron dos condiciones ambientales diferentes basadas en estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación dando lugar a un modelo validado de exposición en una cámara ambiental.^{80,295,361} Además, la sociedad americana de Ingenieros de Calefacción, Refrigeración y Aire Acondicionado (por sus siglas en inglés, ASHRAE, Peachtree Corners, Georgia, Estados Unidos), recomienda una humedad relativa en espacios interiores del 60%,³⁷⁰ siendo el rango de comodidad para la

mayoría de la población entre 40% y 60%.³⁷¹ La ASHRAE también recomienda una temperatura interior de entre 20,5°C y 24°C en invierno con una humedad del 50%. Por lo tanto, para determinar la eficacia del tratamiento con LipiFlow® se determinó una humedad relativa del 50% y una temperatura de 23°C. Para la condición ambiental adversa, se mantuvo la misma temperatura, pero la humedad relativa descendió hasta un 10% ya que durante el invierno es frecuente encontrar valores de humedad bajos en oficinas y viviendas situadas en climas propios del hemisferio norte.³⁷²

En este estudio no se encontraron diferencias en los valores la variable primaria TFBUT en las visitas de seguimiento, comparado con el valor de la visita basal. Otros autores sí observaron un aumento en el TFBUT cuatro semanas después del tratamiento.^{73,261} Sin embargo, en el estudio de Zhao *et al.*,²⁶¹ ese aumento a las cuatro semanas no se mantuvo pasados 3 meses del tratamiento. Greiner observó también un aumento en el TFBUT tras cuatro semanas,^{253,254} aunque en este caso el aumento no se mantuvo a los 9 y 12 meses después del tratamiento. Satjawatcharaphong *et al.*,³⁷³ tampoco encontraron cambios significativos en el TFBUT 52 días después del tratamiento. Similares resultados obtuvieron Yeo *et al.*,²⁶² que no encontraron diferencias significativas en el TFBUT 3 meses después del tratamiento. Por lo tanto, parece que, aunque el TFBUT aumente en las primeras semanas tras el tratamiento, este efecto no se mantiene después de varios meses. En el presente estudio, la primera visita de seguimiento se programó a los 3 meses y esa puede ser la razón por la que no se observó un cambio significativo en el TFBUT tras el tratamiento.

Con respecto a la función de las GM, sí que se encontró una mejora a lo largo de todas las visitas de seguimiento del estudio. Greiner²⁵³ obtuvo resultados similares observando un aumento del MGYLS un año después del tratamiento. Estos resultados sugieren que el tratamiento con LipiFlow® produce un efecto a largo plazo en la secreción de GM, asociado a una mejora rápida después del tratamiento, que se mantiene meses después.

Tras haber observado una mejora en la secreción de las GM, era de esperar también una mejora en el espesor de capa lipídica. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre visitas. Estos resultados están en línea con otros autores que no encontraron diferencias al mes, a los 3 y a los 12 meses tras el tratamiento.^{75,261} Por el contrario, un estudio retrospectivo observó una mejora de espesor de capa lipídica a las 4 y 12 semanas tras el tratamiento,²⁵² y Finis *et al.*^{75,255} obtuvieron también un aumento a los 6 meses, pero no a los 3 meses. La razón por la que se han obtenido resultados diferentes puede ser los valores de espesor de capa lipídica de la visita basal. En este estudio, el valor medio de espesor de capa lipídica fue alto, cerca de 70 nm, mientras que Finis *et al.*^{75,255} determinaron un criterio de corte ≤ 60 nm. Los resultados de este estudio son más similares a los de Blackie *et al.*,⁷⁴ cuyo criterio de corte fue ≤ 80 nm. Por esa razón, puede que la probabilidad de observar un aumento del espesor de capa lipídica sea mayor cuando dicha capa es más fina.

También se encontró una mejoría en los signos del borde palpebral asociados a blefaritis anterior a los 6 y 12 meses tras el tratamiento. Es probable que el tratamiento con LipiFlow® disminuya la dilatación de los

conductos de las GM asociado con el aumento de la viscosidad del meibum, común en pacientes con DGM. Esta disminución en la dilatación puede reducir los signos de inflamación del borde palpebral. Hasta donde sabemos, esta es la primera vez que se observa una mejora en el grado de blefaritis anterior tras el tratamiento con LipiFlow®. Esta medida se ha incluido anteriormente solo en un estudio como variable de seguridad,²⁵² pero su evaluación es común en otros tratamientos para la DGM como la aplicación de calor húmedo, la higiene palpebral o el sondaje de las GM.⁷⁴

No se encontraron diferencias en el NIBUT en las visitas de seguimiento. Estos resultados se encuentran en línea con los obtenidos por Finis *et al.*,²⁵⁵ que tampoco encontraron diferencias 6 meses después del tratamiento. Por el contrario, Kim *et al.*,³⁷⁴ y Li *et al.*³⁷⁵ sí que observaron una mejoría a los 3 y 4 meses, respectivamente. Estos hallazgos sugieren que, a pesar de la mejora de la secreción de las GM, la estabilidad lagrimal no se ve afectada, aunque la diferencia también podría deberse a la variabilidad de los test de evaluación de estabilidad lagrimal. Incluso bajo la condición ambiental adversa, no hubo diferencias salvo en la visita de seguimiento a los 3 meses. En el presente estudio se midió el tiempo de ruptura lagrimal tanto con fluoresceína como de manera no invasiva para comparar los resultados obtenidos con otros estudios.

Con respecto a la integridad de la SO, se observó un descenso en la tinción corneal con fluoresceína en todas las visitas de seguimiento, y una disminución de la tinción conjuntival con verde de lisamina a los 6 y 12 meses después del tratamiento. Estos resultados están en línea con otros autores que observaron una mejoría en la tinción corneal al mes y

a los 3 meses del tratamiento.^{73,261,263} Por el contrario, Finis *et al.*,⁷⁵ evaluaron conjuntamente la tinción corneal y conjuntival utilizando la escala Oxford y observaron que, la mejoría obtenida al mes del tratamiento se revertía pasados 3 meses. Estas diferencias entre estudios pueden deberse a las diferentes escalas utilizadas en la evaluación de las tinciones de la SO. Sin embargo, es ampliamente conocido que, independientemente de su severidad, la presencia de tinciones en la SO en pacientes con EOS está relacionada con la presencia de inflamación,³²⁶ la cual debería resolverse o, al menos, mejorar. La DGM está mayoritariamente relacionada con la EOS de tipo evaporativo y, por esta razón, la tinción corneal es menor que en pacientes con EOS de tipo acuodeficiente. De esta manera, es esperable que los valores de tinción de la SO sean también menores después del tratamiento.

Se ha visto que este tratamiento es efectivo en el control de los síntomas, ya que se encontró un descenso en la puntuación del cuestionario OSDI a los 12 meses del tratamiento. Esta mejoría en la sintomatología también se ha visto en otros estudios.^{73,253,264,373} Es decir, el tratamiento con LipiFlow® supone una mejora tanto objetiva como subjetiva para los pacientes con DGM. En concreto, la satisfacción media los participantes de este estudio fue de 8,2 puntos (rango 0 – 10). Por todo ello, el tratamiento con LipiFlow® parece un buen tratamiento también desde el punto de vista del paciente.

Con respecto a la composición del meibum, se ha observado que el tratamiento con LipiFlow® puede hacer que el colesterol y la cera éster insaturada en el meibum no sean detectados. Estos cambios podrían

tener relación con la integridad de la SO, ya que se han encontrado diferencias significativas en la tinción de la SO entre el grupo de sujetos en el que se detectó el colesterol y la cera éster insaturada, y el grupo en el que no se detectó. La viscosidad del meibum aumenta en pacientes con DGM debido en parte a una disminución del colesterol.⁸ Sin embargo, otros autores afirman que es más importante la longitud de la cadena, los enlaces y la saturación del colesterol, que la cantidad.^{94,376} También hay un aumento de esteres de cera en DGM.²⁷ Aunque la composición del meibum se ha estudiado desde hace más de una década, su uso como biomarcador para evaluar la eficacia de los tratamientos es escaso. Folks *et al.*,²⁸¹ observaron cambios en el orden de las cadenas de lípidos que forman el meibum en sujetos tratados con Azitromicina tópica, alcanzando niveles similares a los considerados normales. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio sobre los cambios en la composición del meibum tras aplicar un tratamiento no farmacológico para la DGM. Son necesarios más estudios que correlacionen la mejora de la secreción de las GM con los cambios a nivel químico en la composición del meibum, ya que la variabilidad en las técnicas de recogida y análisis del meibum podrían dar lugar a resultados diferentes.

Mientras otros estudios han evaluado la eficacia de LipiFlow® a largo plazo, este es el primero en el que los sujetos han sido siempre evaluados bajo las mismas condiciones ambientales. Asimismo, no se ha comprobado si la mejoría observada en otros estudios era lo suficientemente consistente para proteger a los pacientes de una exacerbación de los signos y síntomas del ojo seco tras estar expuesto a un ambiente adverso. En este estudio se observó que la condición

ambiental adversa tenía un efecto negativo en el espesor de capa lipídica y la tinción corneal. Este empeoramiento en la SO se ha observado anteriormente, no solo en pacientes con EOS, sino también en sujetos sanos y en usuarios de LC.^{73,290,377-379} Observando los resultados de la tinción corneal, se podría esperar un descenso en el empeoramiento después de la exposición al ambiente adverso a los 3 y 6 meses después del tratamiento. Sin embargo, las diferencias no alcanzaron la significación estadística, medido por la interacción entre el tiempo y las condiciones ambientales. Las medidas subjetivas siguieron una tendencia similar. Así, los resultados del CDES-Q-1 mostraron que el porcentaje de sujetos que se encontraron peor tras estar 2 horas expuestos al ambiente adverso en la visita basal fue mayor (un 47,6%) en comparación con las visitas de evaluación a los 3, 6 y 12 meses (33,3%, 19,0%, and 28,6%, respectivamente). Sin embargo, esta mejoría, al igual que la tinción corneal, no fue significativa, incluso a los 6 meses, donde se observa la mayor diferencia. Este hecho puede deberse al pequeño tamaño muestral, calculado en base al TFBUT, la variable primaria de eficacia. Por esta razón, es necesaria una muestra de estudio más amplia para evaluar el posible efecto profiláctico que puede tener en LipiFlow® ante un ambiente adverso.

La tinción corneal tras la exposición a los 6 y 12 meses tiende a ser mejor que en la visita basal incluso antes de la exposición, aunque la interacción entre el efecto del tiempo y las condiciones ambientales no fue significativa. Así mismo, el porcentaje de pacientes que se encontraron mejor, o igual después de la exposición fue de 52,4%, 81%

y 71,4% en la visita basal, a los 6 y 12 meses, respectivamente. Sin embargo, las diferencias no fueron significativas.

Estudios anteriores llevados a cabo en nuestro grupo de investigación han demostrado que los sujetos, con o sin EOS, empeoran bajo condiciones ambientales adversas,^{76,79,80} por lo tanto, que el tratamiento con LipiFlow® tenga un efecto profiláctico puede ser la explicación a los resultados obtenidos, aunque son necesarios más estudios que lo confirmen. Los pacientes con EOS sufren episodios agudos de inflamación, la exacerbación de la EOS, desencadenados por condiciones ambientales adversas.³⁸⁰ Otros estudios han evaluado diferentes tratamientos para la EOS, como terapias inflamatorias, para inhibir la exacerbación provocada por condiciones ambientales adversas.^{294,295,381,382} Por lo tanto, para mejorar episodios de exacerbación de la EOS, el tratamiento con LipiFlow® puede recomendarse en combinación con otras terapias con beneficios profilácticos frente a condiciones ambientales adversas.^{294,295,381,382}

La principal limitación de este estudio es la ausencia de un grupo control al que se le prescribiera otro tratamiento o incluso sin tratamiento. No obstante, Pang *et al.*³⁷⁷ llevaron a cabo un metaanálisis de ensayos clínicos aleatorizados que comparaban la eficacia del tratamiento con LipiFlow® frente a la higiene palpebral. Su conclusión fue que una sola sesión de LipiFlow® era más eficaz en términos de signos y síntomas oculares, con unos efectos duraderos de 1 a 3 meses. La segunda limitación de este estudio es que los participantes no estaban enmascarados, por lo que no se puede obviar el posible efecto placebo.

En conclusión, este estudio demuestra que una sola sesión de tratamiento con LipiFlow® supone una mejora objetiva y subjetiva de la unidad funcional lagrimal en pacientes con DGM, bajo condiciones ambientales controladas. Además, los efectos del tratamiento duran hasta un año después de su aplicación. El tratamiento con LipiFlow® puede ser una terapia complementaria para evitar los episodios agudos en pacientes con DGM cuando están expuestos a ambientes adversos. Sin embargo, se necesita una muestra más amplia para confirmar esta posible acción profiláctica.

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES

Conclusión 1: Es posible caracterizar la morfología de las glándulas de Meibomio del párpado superior de manera objetiva, definiendo nuevos índices que permiten cuantificar diferentes propiedades de dichas glándulas. También es posible determinar los intervalos de referencia para cada una de las características morfológicas de las glándulas de Meibomio teniendo en cuenta la influencia de la edad y el sexo. Estos valores pueden ser utilizados a la hora de describir los cambios asociados a alteraciones de la superficie ocular.

Conclusión 2: Es posible evaluar la morfología de las glándulas de Meibomio en sujetos con enfermedad de ojo seco aplicando los índices definidos en esta tesis doctoral. También es posible clasificar dicha morfología en estos sujetos aplicando los intervalos de referencia calculados en esta tesis doctoral. De acuerdo con esta clasificación, la alteración de la morfología de las glándulas de Meibomio puede contribuir a detectar casos con una peor función de las glándulas de Meibomio y un mayor grado de síntomas cuando los signos oculares son iguales.

Conclusión 3: Los sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas sufren un aumento del grado de pérdida de glándulas de Meibomio tras el trasplante, aunque los tratamientos previos al trasplante como la radioterapia, la quimioterapia o la terapia inmunosupresora contribuyen también a una alteración de la morfología de las glándulas de Meibomio.

Conclusión 4: Una sola sesión de tratamiento con LipiFlow® supone una mejora objetiva y subjetiva de la unidad funcional lagrimal en pacientes con disfunción de glándulas de Meibomio en condiciones ambientales controladas y sus efectos duran hasta un año después del tratamiento.

LÍNEAS DE FUTURO

En esta tesis doctoral se ha caracterizado la morfología de las GM en el párpado superior de sujetos sanos. Con el fin de completar esta investigación, se plantea en el futuro incluir el párpado inferior en la caracterización, para lo que habría que incluir las modificaciones necesarias en el software desarrollado en R.

En relación también con el software desarrollado, ha sido diseñado para las imágenes de meibografía obtenidas con el instrumento Easy Tear View+. Con el fin de realizar un análisis objetivo independiente del instrumento que se utilice para realizar la meibografía, una de las líneas de futuro de esta tesis doctoral podría ser adaptar el software para analizar imágenes procedentes de distintos meibógrafos.

Además de la caracterización en los sujetos sanos, se ha caracterizado la morfología de las GM en sujetos con EOS. En este grupo, no se hicieron distinciones en el origen de la EOS, por lo que en el futuro podría plantearse aumentar la muestra incluyendo diferentes subtipos (acuodeficiente y evaporativo) de EOS y comparar la morfología de las GM entre esos grupos para comprobar si presentan patrones diferentes en la morfología de las GM. También podría ampliarse la caracterización de las GM a otras poblaciones como, por ejemplo, usuarios de LC.

Otra población estudiada en esta tesis doctoral han sido los sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas. En este estudio se han incluido imágenes de meibografía de estos sujetos, por lo que en el futuro podría completarse con datos clínicos que permitan conocer el estado de la SO tras someterse al régimen de acondicionamiento previo al trasplante.

En esta misma línea, podrían incluirse también datos clínicos para completar el estudio longitudinal y observar si existen cambios antes y después del trasplante. Sería también interesante ampliar la muestra y añadir información sobre el desarrollo de EICH ocular para conocer si la pérdida de GM es un factor de riesgo o no para desarrollar esta enfermedad. Para lograr este objetivo, sería conveniente incluir sujetos con al menos 6 meses de seguimiento, y comparar aquellos que desarrollaron EICH ocular después del trasplante con aquellos que no lo desarrollaron.

Finalmente, en esta tesis doctoral se ha evaluado la eficacia del tratamiento para la DGM en condiciones ambientales controladas. Para completar este estudio, sería interesante realizar un estudio con grupo control, por lo que una línea de futuro sería aumentar la muestra y comparar un grupo con tratamiento con LipiFlow® con otro grupo sin tratamiento o con otro tratamiento. Además, podrían modificarse otras variables relacionadas con un ambiente adverso como, por ejemplo, la existencia de flujo de aire. También sería interesante conseguir un biomarcador objetivo que permita medir la mejoría del paciente, como puede ser el análisis del meibum. En el futuro podría completarse ese análisis estudiando más componentes del meibum.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. Introduction

The lacrimal functional unit is composed of the lacrimal glands (main and accessory), the meibomian glands (MG), the ocular surface (OS), and of the innervation system that regulates these structures (the ophthalmic branch of the trigeminal nerve).¹ Its function is to maintain the homeostatic balance of the OS by providing a good quality tear film (TF). A disturbance in any of its components can lead to OS disease.²

The MG are sebaceous glands located in the tarsus of the upper and lower eyelids,³ whose function is to secrete meibum to the TF. The meibum is mainly composed of wax and cholesterol esters,⁴⁻⁷ and its function is to stabilize the TF and prevents its evaporation.⁸ The MGs are physiologically arranged in parallel along the palpebral tarsus, however their distribution may vary depending on different ocular conditions, such as dry eye disease (DED).³ When the composition of the meibum is altered, the viscosity of the meibum increases and blockages can happen, leading to MG dysfunction (MGD).⁹⁻¹² This condition may lead to evaporative dry eye.¹³ The prevalence of MGD increases with age and ranges from 3.5% to 70%.¹⁵⁻²⁰

The diagnosis of MGD is based on patient-reported symptoms, evaluation of MG secretion and morphology.²³ Symptoms are closely related to DED, such as foreign body sensation, photophobia, blurred vision or pain.²⁴⁻²⁶ The main signs are changes in palpebral margin morphology, altered meibum secretion and MG shortening and/or dropout.²³ MG dropout is defined as the loss of glandular tissue. This can be observed under infrared light using the meibography technique.^{27,28} The MG dropout occurs in patients with MGD,²³ and also

increases with age in healthy subjects.²⁷ Currently, there is no consensus on the evaluation procedure of the meibography images. Subjective scales are the most common method used to evaluate the MG dropout.^{29,30} Other authors report the evaluation of different MG characteristics such as length,^{31–34} width,^{32–35} or tortuosity.^{34,36–39,205} Different techniques have been used to quantify these characteristics, from software with manual intervention such as Image J,^{31,33–36,40–43} to other automatic or semi-automatic programs.^{32,44–51} Although these automatic methods have been a good advance in the study of MG morphology, some of them still require manual corrections,^{32,51} while others only analyze the upper eyelid,^{44,52} or need a larger sample to be validated.⁵²

Alteration of MG morphology is present in different conditions. In this doctoral thesis, three specific conditions have been selected to evaluate these morphological changes. Being, DED, and hematopoietic cell transplantation. The reasons for these are the following: first, the relationship between MG loss and age is widely known.^{29,31,53,54} Therefore, when evaluating the MG loss as normal or not-normal, the age factor is crucial. Secondly, MGD is the most common cause of DED.⁵⁵ Impaired MG function can result in MG atrophy, due to duct obstruction, and thus MG loss.²³ Third, MG dropout associated with graft-versus-host disease with ocular involvement (ocular GvHD) has been described.^{57–61} This disease is a major complication of hematopoietic cell transplantation,⁶² which is prescribed as a treatment for impaired bone marrow function and malignant tumors.⁶³ Prior to transplantation it is necessary to submit the patient to a conditioning regimen in which a series of chemotherapy treatments, radiotherapy and/or immunosuppressive therapies are prescribed. However, there is some

controversy as to whether MG dropout occurs even before transplantation due to these treatments.⁶⁴ Consequently, it is necessary to evaluate MG morphology in patients undergoing hematopoietic cell transplantation before and after transplantation.

The most common treatment for MGD is lid hygiene. It consists of applying heat to the eyelids and massaging the palpebral margin with fingers to improve MG secretion.^{66,67} Although it improves the signs and symptoms associated with MGD, it is a time-consuming treatment, directly impacting the patient's commitment to perform it and thus the effectiveness of the treatment.^{69,70} In addition, the lack of consensus on how often it should be performed also decreases its effectiveness.⁶⁵ Based on the same principle, different devices that apply heat, moisture or massage have been developed in recent years, such as the LipiFlow® device.⁷¹ The device consists of an eyelid warmer that reaches 42.5°C and an eye cup that applies pressure thanks to an inflatable air chamber, called the 'Activator'. The treatment lasts 12 minutes and is applied to both eyes at the same time in one single application.⁷² It improves both symptoms and signs related to MGD up to one year.⁷³⁻⁷⁵ This treatment is a great advantage for the patients as they do not have to perform daily eyelid hygiene and its effects are long lasting. In this doctoral thesis we wanted to test the effect of exposure of patients to an adverse environment on the efficacy of the treatment. As it is widely known that subjects with DED suffer increased symptoms and signs in adverse environmental conditions such as low humidity, high temperature or air flow.⁷⁶⁻⁸⁰

2. **Justification**

MGD is the main cause of DED, and its diagnosis is based on patient-reported symptoms and evaluation of MG function and morphology (with non-contact meibography imaging of the glands). Although meibography is the only method to observe MG morphology in the clinic, there is no consensus on how to evaluate these images. For this reason, this doctoral thesis proposes the development of new objective methods of analysis to characterize the morphology of MG according to different conditions such as age, DED, and hematopoietic cell transplantation.

In addition to diagnosis, treatment evaluation for MGD is also important. Nowadays, people are continuously exposed to adverse environmental conditions, such as low humidity, especially indoors. It is known that a decrease in relative humidity increases the signs and symptoms of DED. For this reason, in this doctoral thesis, we have also evaluated the effect of adverse environmental exposure on the efficacy of MGD treatment.

3. **Hypothesis and objectives**

3.1. **Hypothesis**

Meibomian gland morphology changes with age and in different ocular conditions, and analysis of these changes may be useful in the evaluation of the diagnosis and treatment of such conditions.

3.2. **Objectives**

Objective 1: To characterize the morphology of the meibomian glands in healthy subjects, defining reference intervals for each of the characteristics observable on meibography.

Objective 2: To evaluate Meibomian gland morphology in subjects with dry eye disease.

Objective 3: To evaluate meibomian gland morphology in subjects undergoing hematopoietic cell transplantation.

Objective 4: To evaluate the effect of treatment for Meibomian gland dysfunction under controlled environmental conditions.

4. Characterization of the Meibomian glands

4.1. Reference intervals for Meibomian gland morphology in healthy subjects.

4.1.1. Justification

Meibography is the most widely used technique to evaluate MG morphology.⁸¹ Different methods have been developed to evaluate the images obtained with this technique, from graduated scales to automatic or semi-automatic software.^{32,44–52,82} It has been previously described that MG morphology changes due to external factors such as age,^{29,30} and due to other ocular conditions such as DED or ocular GvHD.^{55,83} Characterization of the changes associated with each factor could improve the diagnosis of MGD associated with these conditions. For this reason, the purpose of this study is to objectively characterize MG morphology in healthy subjects and to define reference intervals (RI) for these morphologic features. RI as a function of age and sex can serve as a diagnostic tool for the identification of abnormalities in MG morphology.

4.1.2. Material and methods

A prospective, observational study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, including healthy subjects

who were not contact lens wearers and without active or chronic ocular diseases. The study was approved by the Ethics Committee of the Valladolid East Health Area and the IOBA research committee.

4.1.2.1. Clinical evaluation

Participants attended a single visit in which their ocular symptoms were assessed with the Ocular Surface Disease Index (OSDI) questionnaire. In addition, the following clinical tests were performed: visual acuity (VA), measurement of TF lipid layer thickness, degree of conjunctival hyperemia and papillae, tear fluorescein breakup time (TFBUT), fluorescein corneal staining, fluorescein Marx line assessment, lissamine green conjunctival staining, eyelid inflammatory signs (telangiectasias, thickening and regularity), assessment of expression and quality of MG secretion, upper lid meibography and Schirmer's test without anesthesia.

4.1.2.2. Objective analysis of MG images

The meibography images were analyzed using a custom developed software implemented in the R statistical language. The process consisted of four stages: 1) selection of the region of interest to be analyzed, 2) pre-processing of the image to obtain a binary image and a skeleton image, 3) modeling of each MG, using piecewise linear functions, and 4) quantification of the MG features. The MG features were length, euclidean distance between ends, width, number of MGs, number of segments per MG (each MG is divided into segments according to their changes of direction), tortuosity index from 0 to 1 (non-dimensional index developed specifically for this work where 0 = not very tortuous and 1 = very tortuous), deviation from vertical line, overall MG area, and superior

area (considering only the half of the region of interest closest to the free edge of the eyelid).

4.1.2.3. Statistical analysis

Values are presented as mean and 95% confidence interval (CI). The RIs were calculated for each of the MG characteristics, so that they could be used as a diagnostic rule when classifying a value as normal or non-normal. GAMLSS (Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape) models were used to estimate the percentile curves for each of the variables related to MG morphology, considering the possible influence of age and sex of the subjects. To carry out the fitting of the best model for each of the characteristics, two decisions were made. For each of the distributions of a family chosen according to the nature of each variable, the type of dependence of sex and age on each of the parameters characterizing that distribution was decided by an automatic algorithm. Subsequently, it was decided which of all the distributions of the chosen family best fitted the data. The decisions were based on Akaike's information criterion (AIC). All models were validated using the randomized / normalized quantile residuals.⁸⁴

4.1.3. Results

We included 156 subjects with a mean age of 43.88 (95% CI: 41.38 - 46.37) years, range 16 - 76 years. The mean value of GM length was 1.91 mm (95% CI 1.82 - 2.01) and its RI was age-dependent (0.87 - 2.51 mm \leq 20 years; 0.95 - 2.93 mm 21 - 30 years; 1.05 - 3.14 mm 31 - 40 years; 1.11 - 3.22 mm 41 - 50 years; 1.11 - 3.13 mm 51 - 60 years; 1.03 - 2.81 mm 61 - 70 years and 0.92 - 2.57 mm 71 - 80 years). The mean value of the euclidean distance was 1.8 mm (95% CI 1.71 - 1.89) and its RI also depends on age (0.82 - 2.28 mm \leq 20 years; 0.9 - 2.73 mm 21 - 30 years;

1.02 - 2.94 mm 31 - 40 years; 1.07 - 2.98 mm 41 - 50 years; 1.07 - 2.9 mm 51 - 60 years; 0.98 - 2.57 mm 61 - 70 years and 0.87 - 2.37 mm 71 - 80 years)). The mean value of the width was 0.3 mm (95% CI: 0.29 - 0.31) and its RI depends on age (0.22 - 0.38 mm for 20 - 60 years; 0.23 - 0.35 mm 61 - 70 years and 0.26 - 0.33 71 - 80 years). The mean number of MGs was 16.05 (95% CI: 15.28 - 16.82) (RI: 8 - 27). The mean number of segments was 6.07 (95% CI: 5.77 - 6.36) (RI: 3 - 9). The mean value of the tortuosity index was 0.3 (95% CI 0.3 - 0.31) and its RI depends on age (0.19 - 0.4 \leq 20 years; 0.19 - 0.41 21 - 30 years; 0.2 - 0.4 31 - 40 years; 0.22 - 0.39 41 - 50 years; 0.24 - 0.39 51 - 60 years; 0.23 - 0.41 61 - 70 years and 0.22 - 0.43 71 - 80 years)). The mean value of the vertical deviation was 0.37 (95% CI: 0.36 - 0.38) (RI: 0.29 - 0.45). The mean value of the global MG area was 14% (95% CI: 14 - 15) (RI: 8.17 - 19.81%). Finally, the mean value of the upper area of the eyelid region of interest was 63% (95% CI: 62 - 64) and its RI depends on age and sex (male RI: 58 - 74% \leq 20 years; 57 - 74% 21 - 30 years; 54 - 74% 31 - 40 years; 54 - 76% 41 - 50 years; 51 - 77% 51 - 60 years; 53 - 81% 61 - 70 years and 57 - 84% 71 - 80 years; female RI: 56 - 71% \leq 20 years; 55 - 71% 21 - 30 years; 52 - 81% 31 - 40 years; 52 - 73% 41 - 50 years; 50 - 74% 51 - 60 years; 51 - 77% 61 - 70 years and 55 - 82% 71 - 80 years).

4.2. Meibomian gland morphology in subjects with dry eye disease

4.2.1. *Justification*

The main cause of DED is MGD,⁸⁵ and its prevalence varies from 3.5% to 70%.¹⁵⁻²⁰ Since the characterization of MG morphology in healthy subjects could improve the diagnosis of MGD, the aim of the second part of this study is to evaluate the clinical differences between healthy

subjects and subjects with DED. RIs were applied to classify subjects with DED according to the morphology of their MGs.

4.2.2. *Material and methods*

Subjects with DED defined as OSDI ≥ 13 and at least two of the following altered tests in both eyes were recruited: TFBUT ≤ 7 seconds, corneal staining with fluorescein ≥ 1 on Oxford scale, conjunctival staining with lissamine green ≥ 1 on Oxford scale, and Schirmer's test ≤ 5 mm in 5 minutes.

4.2.2.1. Clinical evaluation.

The following tests were performed in a single visit: OSDI, VA, bulbar and tarsal conjunctival hyperemia, papillae grade, TFBUT, fluorescein corneal staining, Marx line, conjunctival staining with lissamine green, signs of lid inflammation (telangiectasias, thickening and regularity), evaluation of expression and quality of secretion of MG, upper lid meibography, and Schirmer test without anesthesia. MG morphology was also evaluated with the software developed in R described above.

4.2.2.2. Statistical analysis

On the one hand, the sample of subjects with DED was compared with a subgroup of healthy subjects older than 45 years. The difference in sex was evaluated using the Chi-square test. When the assumption of normality was valid, the Student's t-test for independent samples was used. Otherwise, the nonparametric Man Whitney U test was used. On the other hand, a subject with DED was classified as non-normal when the value observed in at least one of the characteristics related to the morphology of their MG was outside the corresponding IR. Clinical features were compared between the group classified as normal and non-

normal. To compare the two groups, Student's T test for two independent samples or the Mann-Whitney U test were used, depending on whether the normality assumption was valid.

4.2.3. Results

Seventy-six healthy subjects were included in the control group, with a mean age of 57.63 (95% CI: 56 - 59.26) years. Thirty-nine subjects were included in the DED group, with a mean age of 61.56 (95% CI: 58.2 - 64.92) years. The DED group had a significantly higher percentage of women (74.36% vs. 50%, $p = 0.012$). It also had a higher OSDI value: 32.75 (95% CI: 26.36 - 39.13) vs. 3.24 (95% CI: 2.44 - 4.03); $p < 0.001$. Bulbar and tarsal conjunctival hyperemia was higher in subjects with OSDI (bulbar: median value 2 [Interquartile range (IQR): 1] vs. 1 [IQR: 0], $p = 0.003$; tarsal: 2 [IQR: 2] vs. 1 [IQR: 1], $p = 0.004$). TFBUT was shorter in subjects with DED: 3.3 (95% CI: 2.87 - 3.73) seconds vs. 9.29 (95% CI: 7.84 - 10.74) seconds; $p < 0.001$. Corneal staining values: 3.38 (95% CI: 2.5 - 4.27) vs. 0.45 (95% CI: 0.27 - 0.65); Marx line: 9.26 (95% CI: 8.13 - 10.38) vs. 6.24 (95% CI: 5.4 - 7.08); and conjunctival staining: 2.33 (95% CI: 1.92 - 2.75) vs. 0.68 (95% CI: 0.4 - 0.96), were also higher in the DED group (all $p < 0.001$). Signs of inflammation (2 [IQR: 0] vs. 1 [IQR: 1]), function (2 [IQR: 1] vs. 1 [IQR: 1]), and quality of secretion (2 [IQR: 1] vs. 1 [IQR: 1]) of MGs were significantly higher in the DED group ($p < 0.001$). MG length: 1.72 mm (95% CI: 1.49 - 1.94) vs. 1.95 mm (95% CI: 1.81 - 2.09); $p = 0.023$; and euclidean distance: 1.66 mm (95% CI: 1.43 - 1.89) vs. 1.83 mm (95% CI: 1.7 - 1.96); $p = 0.041$, were smaller in subjects with DED. The number of segments was also lower: 5.35 (95% CI: 4.76 - 5.94) vs. 6.28 (95% CI: 5.85 - 6.71); $p = 0.011$. There were no significant differences in the rest of the variables.

According to RI, 66.7% of subjects with DED were classified as 'normal' (RI-normal) and 33.3% as 'non-normal' (RI-non-normal). The RI-non-normal vs. RI-normal group had a higher OSDI value: 40.14 (95% CI: 28.87 - 51.4) vs. 29.06 (95% CI: 21.18 - 36.93); $p = 0.0342$, and worse expression (2 [IQR: 0] vs. 2 [IQR: 1], $p = 0.041$) and quality (2 [IQR: 0] vs. 2 [IQR: 1], $p = 0.0522$) of MG secretion. No significant differences were found in the rest of the variables.

5. Effect of hematopoietic cell transplantation on the Meibomian glands

5.1. Justification

GvHD is one of the main complications of hematopoietic cell transplantation, and between 60% and 90%^{87,88} of patients with chronic GvHD develop OS involvement, causing what is called ocular GvHD.⁶² Prior to transplantation, chemotherapy, radiotherapy and/or immunosuppressive therapy treatments are prescribed that can affect the MG.⁸⁹⁻⁹¹ For this reason, the aim of this study is to compare the status of the MG in subjects subjected to treatment prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation and its evolution after transplantation.

5.2. Material and methods

This retrospective study was performed at the Ocular Surface Group of the University Hospital Cologne, Germany, under the supervision of Dr. Philipp Steven. Meibography images of both eyelids were collected from subjects undergoing hematopoietic cell transplantation between 2014 and 2020, and from healthy control subjects. This study was approved by the ethics committee of the University Hospital of Cologne under EPISODE code: #16-405.

5.2.1. Image analysis

The area of MG loss was graded with the meiboscale scale of Pult et al,³⁰ and the images were further analyzed with MeVisLab software (www-mevislab.de, MeVis Medical Solutions AG, Bremen, Germany), customized for MG detection and analysis. The analysis consists of four steps: selection of the total eyelid area, selection of MGs within that area, obtaining the segmented image, and obtaining the skeleton image. The following measurements were quantified with Fiji software (Fiji Is Just ImageJ, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, United States): MG area, MG number, length, and tortuosity.

5.2.1. Statistical analysis

To assess the MG status of subjects undergoing pre-transplant treatment, meibography images of subjects just before transplantation (after treatment with chemotherapy and/or radiotherapy or immunosuppressive therapy) were compared with images of control subjects. The groups were statistically different in age, so the propensity score method⁸⁷ was used to balance the samples for both age and sex. A weight was assigned to each observation, weighted linear models were fitted using them, and the influence of the group on each of the characteristics related to MG morphology was evaluated.

To check the evolution of MG status after transplantation, images were compared to the pre-transplantation ones and with at least one month of follow-up after transplantation. The Student's t-test for paired samples was used for the variables that fulfilled the normality assumption and the Wilcoxon test for the rest of the variables.

5.3. Results

A total of 181 subjects undergoing pre-transplant treatment and 24 control subjects were included. The estimated mean age in each group was 51.27 (95% CI: 49.04 - 53.5) years and 48.83 (95% CI: 43.98 - 53.68) years, for the transplanted and control groups, respectively. The transplanted group had a higher degree of MG loss in the lower eyelid: 2 (95% CI: 2 - 3) vs. 0 (95% CI: 0 - 2); $p = 0.001$. MG length was shorter in transplanted subjects in both eyelids: upper = 1.31 mm (95% CI: 1.23 - 1.40) vs. 2.79 mm (95% CI: 2.50 - 3.08), $p < 0.001$; lower = 0.75 mm (95% CI: 0.70 - 0.80) vs. 1.12 mm (95% CI: 1.00 - 1.25); $p < 0.001$. No significant differences were found in MG area, MG number, or tortuosity.

A subgroup of 31 subjects was selected with a mean age of 50.01 (95% CI: 45.47 - 54.56) years and with a mean of 10.16 (95% CI: 7.65 - 12.57) months of follow-up after transplantation (range 1 - 38 months). The degree of MG loss was higher after transplantation in the upper eyelid: 2 (95% CI: 1.57 - 2.3); 2, (95% CI: 1.16 - 1.68); $p = 0.005$. MG area was smaller after transplantation in both eyelids: upper = 16.33% (95% CI: 14.06 - 18.6) vs. 21.04% (95% CI: 18.76 - 23.32); $p < 0.001$; lower = 11.74% (95% CI: 9.27 - 14.31) vs. 16.41% (95% CI: 14.04 - 18.79); $p = 0.002$).

MG length was longer after transplantation in both eyelids: upper = 2.26 mm (95% CI: 2.04 - 2.47) vs. 1.58 mm (95% CI: 1.36 - 1.8); $p < 0.001$; lower = 1.2 mm (95% CI: 1.06 - 1.35) vs. 0.88 mm (95% CI: 0.78 - 0.98); $p = 0.034$. Lower eyelid tortuosity was also higher after transplantation, 1.23 (95% CI: 1.14 - 1.33) vs. 1.17 (95% CI: 1.1 - 1.23), $p = 0.048$. No significant differences were found in the rest of the variables.

6. Effect of thermal pulsation treatment in patients with Meibomian gland dysfunction under controlled environmental conditions

6.1. Justification

The efficacy of the LipiFlow® device for the treatment of MGD has been extensively proven and its effects last up to one year after treatment.^{73–75} However, today's lifestyle means that people are exposed to adverse environments such as reduced relative humidity. These adverse environments lead to an increase in the signs and symptoms associated with DED.⁸⁰ For this reason, the aim of this study is to evaluate the efficacy of the LipiFlow® device in subjects with MGD during a one-year follow-up and under normal and adverse environmental conditions.

6.2. Material and methods

6.2.1. Study Subjects

Subjects with DED due to MGD with a score ≥ 13 on the OSDI questionnaire, a lower lid MG secretion score in both eyes ≤ 12 according to Meibomian Gland Yielding Liquid Secretion (MGYLS) score, and at least 10 out of 15 functional glands in the lower lid were recruited. The study was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and with the approval of the Ethics Committee of the Valladolid East Health Area and the IOBA research committee.

6.2.2. Study design and clinical evaluation

The participants attended an initial visit to evaluate their inclusion in the study, a baseline visit for data collection, a LipiFlow® application visit and 3 follow-up visits at 3, 6 and 12 months. At the baseline and follow-up visits, the participants remained for 30 minutes in the controlled environment chamber (Controlled Environmental Laboratory, CELab)⁷⁸

exposed to a normal controlled environmental condition: 23°C and 50% relative humidity.⁷⁸ They then underwent clinical examination including the following tests: symptom assessment with the OSDI questionnaire, VA, measurement of TF lipid layer thickness, degree of conjunctival hyperemia, degree of anterior blepharitis, noninvasive tear breakup time (NIBUT) and with fluorescein (TFBUT), corneal staining with fluorescein, conjunctival staining with lissamine green and meibography. Subsequently, participants were exposed for 2 hours to an adverse controlled environmental condition: 23°C and 10% relative humidity. After these 2 hours, the following clinical tests were performed: evaluation of symptoms after exposure with the Change in dry eye symptoms questionnaire (CDES-Q) and the visual analog scale (VAS), measurement of TF lipid layer thickness, NIBUT and TFBUT, corneal and conjunctival staining and evaluation of MG function with MGYLS. In addition, a meibum sample was collected for subsequent analysis with ¹H nuclear magnetic resonance.

6.2.3 Statistical analysis

As a primary analysis of efficacy, the TFBUT at the baseline visit was compared with the visit at 3-month follow-up in the normal environmental condition using the Wilcoxon test. As a secondary analysis, MGYLS at all visits was evaluated using linear mixed models. To analyze CDES-Q values, the percentage of subjects who felt better, worse, or the same after the 2-hour exposure to the adverse environmental condition at 3, 6, and 12 months was compared with the baseline visit outcome using McNemar's test. For quantitative variables, linear mixed models were fitted. For those variables measured in both environmental conditions, the effect of environmental exposure was added to the model. To quantify

and describe each effect included in the model, marginal means and their differences were estimated. The levels were compared 2 to 2 using Tukey's method for the adjustment of multiple comparisons. In the case of the model with interaction, the effect of this interaction was interpreted. Cumulative logit mixed models were used for the ordinal variables. The Laplace approximation was used to obtain the maximum estimated probability, calculated as odds ratio.

The analysis of meibum composition were performed separately for the two most frequently detected compounds: cholesterol and unsaturated ester wax, dividing the subjects into two groups for each component: when the component was detected at the baseline visit and disappeared at the follow-up visits; and when the component was not detected at any visit. Differences between groups were analyzed for the variables OSDI, degree of anterior blepharitis, corneal and conjunctival staining, and MGYLS, using the Student's T test for quantitative variables, and Man-Whitney U for ordinal variables.

6.3. Results

Seventeen women and 4 men were included, with a mean age of 59.62 (95% CI: 55.34 - 63.9) years. Neither time nor environmental conditions had a significant effect on the primary variable TFBUT between the baseline and follow-up visits. However, there was a significant increase in the secondary variable MGYLS at 12 months follow-up (baseline = 10.3 (95% CI: 9.6 – 11); 12 months = 12.2 (95% CI: 11.2 - 13.2); $p = 0.001$).

6.3.1. *Symptoms*

A significant decrease in symptomatology was observed between the baseline visit and the 12-month follow-up visit, baseline OSDI = 43.02

(95% CI: 32.13 - 53.91); 12-month OSDI = 28.98 (95% CI: 18.86 - 39.1); $p = 0.003$. Neither time nor environmental conditions had a significant effect on CDES-Q or VAS.

6.3.2. Signs

No significant differences were found in VA between visits. There were no significant differences in the lipid layer thickness between visits under the normal environmental condition. Although after exposure to the adverse environmental condition, the model estimated a decrease of 6.5 nm ($p < 0.001$). Neither time nor environmental conditions had a significant effect on conjunctival hyperemia. Time had a significant effect on the degree of anterior blepharitis at 6 ($p = 0.01$) and 12 months ($p = 0.001$). The risk of having one point more severe anterior blepharitis at the baseline visit was 12.5 and 125 times higher than at the 6- and 12-month visits, respectively. NIBUT at the 3-month follow-up visit was higher in the normal environmental condition than in the adverse condition: normal = 12.2 (95% CI: 7.8 - 16.6) seconds; adverse = 6.8 (95% CI: 5.6 - 7.9) seconds; $p < 0.001$, finding no difference at the remaining visits. Corneal staining decreased significantly at each visit: baseline = 3.14 (95% CI: 1.88 - 4.41); 3 months = 2.38 (95% CI: 1.52 - 3.24), $p < 0.001$; 6 months = 2 (95% CI: 0.85 - 3.15), $p < 0.001$; 12 months = 1.67 (95% CI: 0.87 - 2.46), $p < 0.0001$. In addition, the decrease between the 3- and 12-month visit was also significant ($p = 0.031$).

In relation to adverse environmental condition, the model showed a decrease in corneal staining at all visits after 2 hours of exposure: baseline = 3.98 (95% CI: 2.96 - 5); 3 months = 2.62 (95% CI: 1.83 - 3.42); 6 months = 2.19 (95% CI: 1.3 - 3.09); 12 months = 2.02 (95% CI: 1.2 - 2.84); $p = 0.017$. Conjunctival staining decreased at 6 ($p < 0.001$) and 12

months ($p < 0.001$). The probability of a decrease of one unit in conjunctival staining at 6 and 12 months was 4.54 and 16.66 times, respectively, while environmental condition had no significant effect. No significant differences were found in the degree of MG loss between visits in either the upper or lower eyelid. Improvement in MG function assessed with the MGYLS score was observed at all visits: baseline = 10.26 (95% CI: 9.57 - 10.96); 3 months = 11.59 (95% CI: 11.09 - 12.29); 6 months = 12.45 (95% CI: 11.36 - 13.55); 12 months = 12.21 (95% CI: 11.22 - 13.21); $p < 0.001$.

6.3.3. Meibum composition

In the meibum composition, cholesterol and unsaturated ester wax were detected, but two different behaviors were observed, dividing the subjects into 2 groups based on the detection of each compound, cholesterol, and unsaturated ester wax. A total of 4 groups were divided: A cholesterol detected (12 subjects, mean age = 60.23 (95% CI: 56.53 - 63.93) years), B cholesterol not detected (9 subjects, mean age = 58.63 (95% CI: 47.2 - 70.05) years), C unsaturated ester wax detected (8 subjects, mean age = 60.88 (95% CI: 54.45 - 67.3) years) and D unsaturated ester wax not detected (13 subjects, mean age = 58.85 (95% CI: 52.47 - 65.23) years).

For cholesterol; corneal staining was higher in group A (cholesterol detected) compared to group B (cholesterol not detected) at the baseline visit: A = 4.15 (95% CI: 2.3 - 6.01); B = 1.5 (95% CI: 0.69 - 2.31), $p = 0.011$; and at 3-month follow-up: A = 3.12 (95% CI: 1.94 - 4.29); B = 1.19 (95% CI: 0.3 - 2.08), $p = 0.009$. For unsaturated ester wax, corneal staining was also higher at the baseline visit in group C (unsaturated ester wax detected) compared to group D (unsaturated ester wax not detected):

C = 4.5 (95% CI: 1.94 - 7.06); D = 2.13 (95% CI: 0.97 - 3.28), $p = 0.041$. In the rest of the visits there were no significant differences.

Conjunctival staining, in the case of cholesterol, was higher in group A compared to group B, at 3-month follow-up (A: 3 [IQR: 4]; B: 0.75 [IQR: 1]; $p = 0.015$). In the case of unsaturated ester wax, there were no significant differences. There were no differences between groups in symptomatology or degree of anterior blepharitis, nor in MGYLS.

7. Conclusions

Conclusion 1: It is possible to characterize the morphology of the upper eyelid Meibomian glands in an objective way, and to define new indexes that allow quantifying different properties of these glands. Reference intervals can be determined for each of the morphologic characteristics of the Meibomian glands considering the influence of age and sex. These values can be used to describe the changes associated with ocular surface alterations.

Conclusion 2: It is possible to evaluate the morphology of the Meibomian glands in subjects with dry eye disease by applying the indexes defined in this doctoral thesis and to classify such morphology in these subjects by applying the reference intervals calculated in this doctoral thesis. According to this classification, the alteration of Meibomian gland morphology may contribute to detect cases with worse Meibomian gland function and a higher degree of symptoms when ocular signs are equal.

Conclusion 3: Subjects undergoing hematopoietic cell transplantation suffer an increased degree of Meibomian gland loss after transplantation, although pre-transplant treatments such as radiotherapy or

chemotherapy also contribute to an alteration of Meibomian gland morphology.

Conclusion 4: A single session of LipiFlow® treatment leads to an objective and subjective improvement of the lacrimal functional unit in patients with Meibomian gland dysfunction under controlled environmental conditions, and its effects can last up to one year after treatment.

REFERENCIAS

1. 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.
2. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 Suppl 2: S203-10.
3. Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 1938–78.
4. Butovich IA. The Meibomian puzzle: combining pieces together. *Prog Retin Eye Res* 2009; 28: 483–98.
5. Butovich IA, Uchiyama E, di Pascuale MA, McCulley JP. Liquid chromatography-mass spectrometric analysis of lipids present in human meibomian gland secretions. *Lipids* 2007; 42: 765–76.
6. Chen J, Green-Church KB, Nichols KK. Shotgun lipidomic analysis of human meibomian gland secretions with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 6220–31.
7. Sullivan BD, Evans JE, Dana MR, Sullivan DA. Influence of aging on the polar and neutral lipid profiles in human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 1286–92.
8. Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, Borchman D, Paulsen F, Barabino S, Glasgow BJ. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 1979–93.
9. Shine WE, McCulley JP. Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality. *Arch Ophthalmol* 1998; 116: 849–52.
10. Shine WE, McCulley JP. The role of cholesterol in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2272–80.
11. Shine WE, McCulley JP. Role of wax ester fatty alcohols in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 3515–21.

REFERENCIAS

12. Shine WE, McCulley JP. Polar lipids in human meibomian gland secretions. *Curr Eye Res* 2003; 26: 89–94.
13. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci* 1997; 74: 8–13.
14. Schaumberg DA, Nichols JJ, Papas EB, Tong L, Uchino M, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for, MGD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 1994–2005.
15. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol* 1997; 124: 723–8.
16. Lekhanont K, Rojanaporn D, Chuck RS, Vongthongsri A. Prevalence of dry eye in Bangkok, Thailand. *Cornea* 2006; 25: 1162–7.
17. Lin P-Y, Tsai S-Y, Cheng C-Y, Liu J-H, Chou P, Hsu W-M. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology* 2003; 110: 1096–101.
18. Uchino M, Dogru M, Yagi Y, Goto E, Tomita M, Kon T, Saiki M, Matsumoto Y, Uchino Y, Yokoi N, Kinoshita S, Tsubota K. The features of dry eye disease in a Japanese elderly population. *Optom Vis Sci* 2006; 83: 797–802.
19. Jie Y, Xu L, Wu YY, Jonas JB. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study. *Eye (Lond)* 2009; 23: 688–93.
20. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, Stanislavsky YL, Taylor HR. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology* 1998; 105: 1114–9.
21. McCann P, Abraham AG, Mukhopadhyay A, Panagiotopoulou K, Chen H, Rittiphairoj T, Gregory DG, Hauswirth SG, Ifantides C, Qureshi R, Liu S-H, Saldanha IJ, Li T. Prevalence and Incidence of Dry Eye and Meibomian Gland Dysfunction in the United States: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Ophthalmol* 2022; 140: 1181–1192.
22. Hassanzadeh S, Varmaghani M, Zarei-Ghanavati S, Heravian Shandiz J, Azimi Khorasani A. Global Prevalence of Meibomian Gland Dysfunction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 29: 66–75.
23. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Ian Pearce E, Yee R, Yokoi N, Arita R, Dogru M. The international workshop on meibomian

REFERENCIAS

- gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2006–2049.
24. Alghamdi YA, Mercado C, McClellan AL, Batawi H, Karp CL, Galor A. Epidemiology of Meibomian Gland Dysfunction in an Elderly Population. *Cornea* 2016; 35: 731–5.
 25. Shimazaki J, Sakata M, Tsubota K. Ocular surface changes and discomfort in patients with meibomian gland dysfunction. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 1266–70.
 26. Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea* 2012; 31: 472–8.
 27. Mathers WD, Lane JA. Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438: 349–60.
 28. Robin JB, Jester J v, Nobe J, Nicolaidis N, Smith RE. In vivo transillumination biomicroscopy and photography of meibomian gland dysfunction. A clinical study. *Ophthalmology* 1985; 92: 1423–6.
 29. Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008; 115: 911–5.
 30. Pult H, Riede-Pult BH. Non-contact meibography: keep it simple but effective. *Cont Lens Anterior Eye* 2012; 35: 77–80.
 31. Ban Y, Shimazaki-Den S, Tsubota K, Shimazaki J. Morphological evaluation of meibomian glands using noncontact infrared meibography. *Ocul Surf* 2013; 11: 47–53.
 32. Koh YW, Celik T, Lee HK, Petznick A, Tong L. Detection of meibomian glands and classification of meibography images. *J Biomed Opt* 2012; 17: 086008.
 33. Bilkhu PS, Naroo SA, Wolffsohn JS. Effect of a commercially available warm compress on eyelid temperature and tear film in healthy eyes. *Optom Vis Sci* 2014; 91: 163–70.
 34. Adil MY, Xiao J, Olafsson J, Chen X, Lagali NS, Ræder S, Utheim ØA, Dartt DA, Utheim TP. Meibomian Gland Morphology Is a Sensitive Early Indicator of Meibomian Gland Dysfunction. *Am J Ophthalmol* 2019; 200: 16–25.

REFERENCIAS

35. Wu Y, Li H, Tang Y, Yan X. Morphological Evaluation of Meibomian Glands in Children and Adolescents Using Noncontact Infrared Meibography. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2017; 54: 78–83.
36. Gu T, Zhao L, Liu Z, Zhao S, Nian H, Wei R. Evaluation of tear film and the morphological changes of meibomian glands in young Asian soft contact lens wearers and non-wearers. *BMC Ophthalmol*; 20. Epub ahead of print 4 March 2020. DOI: 10.1186/S12886-020-1328-2.
37. Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Furuta A, Tomidokoro A, Amano S. Meibomian gland duct distortion in patients with perennial allergic conjunctivitis. *Cornea* 2010; 29: 858–60.
38. Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Tomidokoro A, Amano S. Association of contact lens-related allergic conjunctivitis with changes in the morphology of meibomian glands. *Jpn J Ophthalmol* 2012; 56: 14–9.
39. Zhao Y, Chen S, Wang S, Chen Y, Li J, Fu Y, Dai Q, Lin X, Wu Y, Zhao Y. The significance of meibomian gland changes in asymptomatic children. *Ocul Surf* 2018; 16: 301–305.
40. Nichols JJ, Berntsen DA, Mitchell GL, Nichols KK. An assessment of grading scales for meibography images. *Cornea* 2005; 24: 382–8.
41. Pult H, Riede-Pult B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Cont Lens Anterior Eye* 2013; 36: 22–7.
42. Srinivasan S, Menzies K, Sorbara L, Jones L. Infrared imaging of meibomian gland structure using a novel keratograph. *Optom Vis Sci* 2012; 89: 788–94.
43. Machalińska A, Zakrzewska A, Adamek B, Safranow K, Wiszniewska B, Parafiniuk M, Machaliński B. Comparison of Morphological and Functional Meibomian Gland Characteristics Between Daily Contact Lens Wearers and Nonwearers. *Cornea* 2015; 34: 1098–1104.
44. Llorens-Quintana C, Rico-Del-Viejo L, Syga P, Madrid-Costa D, Iskander DR. A Novel Automated Approach for Infrared-Based Assessment of Meibomian Gland Morphology. *Transl Vis Sci Technol* 2019; 8: 17.
45. Dai Q, Liu X, Lin X, Fu Y, Chen C, Yu X, Zhang Z, Li T, Liu M, Yang W, Ye J. A Novel Meibomian Gland Morphology Analytic System Based on a Convolutional Neural Network. *IEEE Access* 2021; 9: 23083–23094.
46. Xiao J, Adil MY, Chen X, Utheim ØA, Ræder S, Tønseth KA, Lagali NS, Dartt DA, Utheim TP. Functional and Morphological Evaluation of

REFERENCIAS

- Meibomian Glands in the Assessment of Meibomian Gland Dysfunction Subtype and Severity. *Am J Ophthalmol* 2020; 209: 160–167.
47. Koprowski R, Wilczyński S, Olczyk P, Nowińska A, Węglarz B, Wylęgała E. A quantitative method for assessing the quality of meibomian glands. *Comput Biol Med* 2016; 75: 130–8.
 48. Celik T, Lee HK, Petznick A, Tong L. Bioimage informatics approach to automated meibomian gland analysis in infrared images of meibography. *J Optom* 2013; 6: 194–204.
 49. Wang J, Yeh TN, Chakraborty R, Yu SX, Lin MC. A Deep Learning Approach for Meibomian Gland Atrophy Evaluation in Meibography Images. *Transl Vis Sci Technol* 2019; 8: 37.
 50. Shehzad D, Gorcuyeva S, Dag T, Bozkurt B. Novel Application Software for the Semi-Automated Analysis of Infrared Meibography Images. *Cornea* 2019; 38: 1456–1464.
 51. Arita R, Suehiro J, Haraguchi T, Shirakawa R, Tokoro H, Amano S. Objective image analysis of the meibomian gland area. *Br J Ophthalmol* 2014; 98: 746–55.
 52. Xiao P, Luo Z, Deng Y, Wang G, Yuan J. An automated and multiparametric algorithm for objective analysis of meibography images. *Quant Imaging Med Surg* 2021; 11: 1586–1599.
 53. Rico-Del-Viejo L, Lorente-Velázquez A, Hernández-Verdejo JL, García-Mata R, Benítez-Del-Castillo JM, Madrid-Costa D. The effect of ageing on the ocular surface parameters. *Cont Lens Anterior Eye* 2018; 41: 5–12.
 54. Den S, Shimizu K, Ikeda T, Tsubota K, Shimmura S, Shimazaki J. Association between meibomian gland changes and aging, sex, or tear function. *Cornea* 2006; 25: 651–5.
 55. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, Knop E, Markoulli M, Ogawa Y, Perez V, Uchino Y, Yokoi N, Zoukhri D, Sullivan DA. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf* 2017; 15: 438–510.
 56. 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.
 57. Engel LA, Wittig S, Bock F, Sauerbier L, Scheid C, Holtick U, Chemnitz J-M, Hallek M, Cursiefen C, Steven P. Meibography and meibomian gland measurements in ocular graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50: 961–7.

REFERENCIAS

58. Giannaccare G, Bonifazi F, Sebastiani S, Sessa M, Pellegrini M, Arpinati M, Moscardelli F, Versura P, Campos E. Meibomian Gland Dropout in Hematological Patients Before Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Cornea* 2018; 37: 1264–1269.
59. Bernabei F, Versura P, Pellegrini M, Moscardelli F, Bonifazi F, Sessa M, Arpinati M, Scorcia V, Giannaccare G. Longitudinal Analysis of Infrared Meibography in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Cornea* 2020; 39: 812–817.
60. Hwang HS, Ha M, Kim H-S, Na K-S. Longitudinal analysis of meibomian gland dropout in patients with ocular graft-versus-host disease. *Ocul Surf* 2019; 17: 464–469.
61. Choi W, Ha JY, Li Y, Choi JH, Ji YS, Yoon KC. Comparison of the meibomian gland dysfunction in patients with chronic ocular graft-versus-host disease and Sjögren's syndrome. *Int J Ophthalmol* 2019; 12: 393–400.
62. Westeneng AC, Hettinga Y, Lokhorst H, Verdonck L, van Dorp S, Rothova A. Ocular graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Cornea* 2010; 29: 758–63.
63. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373: 1550–61.
64. Ogawa Y, Okamoto S, Wakui M, Watanabe R, Yamada M, Yoshino M, Ono M, Yang HY, Mashima Y, Oguchi Y, Ikeda Y, Tsubota K. Dry eye after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 1125–30.
65. Geerling G, Tauber J, Baudouin C, Goto E, Matsumoto Y, O'Brien T, Rolando M, Tsubota K, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2050–64.
66. Qiao J, Yan X. Emerging treatment options for meibomian gland dysfunction. *Clin Ophthalmol* 2013; 7: 1797–803.
67. Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, Craig JP, McCulley JP, Den S, Foulks GN. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 1930–7.
68. Pinna A, Piccinini P, Carta F. Effect of oral linoleic and gamma-linolenic acid on meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2007; 26: 260–264.

REFERENCIAS

69. Freedman HL, Preston KL. Heat retention in varieties of warm compresses: a comparison between warm soaks, hard-boiled eggs and the re-heater. *Ophthalmic Surg* 1989; 20: 846–8.
70. Korb DR, Blackie CA. Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea* 2008; 27: 1142–7.
71. Valencia-Nieto L, Novo-Diez A, Blanco-Vázquez M, López-Miguel A. Therapeutic Instruments Targeting Meibomian Gland Dysfunction. *Ophthalmol Ther* 2020; 9: 797–807.
72. Korb DR, Blackie CA. Restoration of meibomian gland functionality with novel thermodynamic treatment device-a case report. *Cornea* 2010; 29: 930–3.
73. Lane SS, DuBiner HB, Epstein RJ, Ernest PH, Greiner J v, Hardten DR, Holland EJ, Lemp MA, McDonald JE, Silbert DI, Blackie CA, Stevens CA, Bedi R. A new system, the LipiFlow, for the treatment of meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2012; 31: 396–404.
74. Blackie CA, Coleman CA, Holland EJ. The sustained effect (12 months) of a single-dose vectored thermal pulsation procedure for meibomian gland dysfunction and evaporative dry eye. *Clin Ophthalmol* 2016; 10: 1385–96.
75. Finis D, Hayajneh J, König C, Borrelli M, Schrader S, Geerling G. Evaluation of an Automated Thermodynamic Treatment (LipiFlow®) System for Meibomian Gland Dysfunction: A Prospective, Randomized, Observer-Masked Trial. *Ocul Surf* 2014; 12: 146–154.
76. López-Miguel A, Tesón M, Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, Stern ME, Calonge M, González-García MJ. Dry eye exacerbation in patients exposed to desiccating stress under controlled environmental conditions. *Am J Ophthalmol* 2014; 157: 788-798.e2.
77. Calonge M, Labetoulle M, Messmer EM, Shah S, Akova YA, Boboridis KG, Merayo-Llodes J, Aragona P, Benítez-Del-Castillo J, Geerling G, Rolando M, Baudouin C. Controlled Adverse Environment Chambers in Dry Eye Research. *Curr Eye Res* 2018; 43: 445–450.
78. Tesón M, González-García MJ, López-Miguel A, Enríquez-de-Salamanca A, Martín-Montañez V, Benito MJ, Mateo ME, Stern ME, Calonge M. Influence of a controlled environment simulating an in-flight airplane cabin on dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 2093–9.

REFERENCIAS

79. 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 subjects with minimally symptomatic dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 4026–32.
80. López-Miguel A, Tesón M, Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, Stern ME, González-García MJ, Calonge M. Clinical and Molecular Inflammatory Response in Sjögren Syndrome-Associated Dry Eye Patients Under Desiccating Stress. *Am J Ophthalmol* 2016; 161: 133-41.e1–2.
81. Shirakawa R, Arita R, Amano S. Meibomian gland morphology in Japanese infants, children, and adults observed using a mobile pen-shaped infrared meibography device. *Am J Ophthalmol* 2013; 155: 1099-1103.e1.
82. Setu MAK, Horstmann J, Schmidt S, Stern ME, Steven P. Deep learning-based automatic meibomian gland segmentation and morphology assessment in infrared meibography. *Sci Rep* 2021; 11: 7649.
83. Osae EA, Steven P. Meibomian Gland Dysfunction in Ocular Graft vs. Host Disease: A Need for Pre-Clinical Models and Deeper Insights. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22: 3516.
84. Dunn PK, Smyth GK. Randomized Quantile Residuals. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 1996; 5: 236–244.
85. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, Na K-S, Schaumberg D, Uchino M, Vehof J, Viso E, Vitale S, Jones L. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf* 2017; 15: 334–365.
86. Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (Lond)* 1991; 5 (Pt 4): 395–411.
87. Anderson NG, Regillo C. Ocular manifestations of graft versus host disease. *Curr Opin Ophthalmol* 2004; 15: 503–7.
88. Hessen M, Akpek EK. Ocular graft-versus-host disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12: 540–7.
89. Bray LC, Carey PJ, Proctor SJ, Evans RG, Hamilton PJ. Ocular complications of bone marrow transplantation. *Br J Ophthalmol* 1991; 75: 611–4.

REFERENCIAS

90. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood* 2014; 124: 344–53.
91. Jousseaume AM, Kruse FE, Völcker HE, Kirchhof B. Topical application of methotrexate for inhibition of corneal angiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 920–7.
92. Rosenbaum PR, Rubin DB. The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika* 1983; 70: 41–55.
93. Pinto-Fraga J, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A, Fernández I, González-García MJ, Steven P. Development of a Questionnaire for Detecting Changes in Dry Eye Disease-Related Symptoms. *Eye Contact Lens* 2021; 47: 8–14.
94. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Changes in human meibum lipid composition with age using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 475–82.
95. Thoft RA. Current concepts in ophthalmology: Corneal disease. *N Engl J Med* 1978; 298: 1239–41.
96. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo C-K, Liu Z, Nelson JD, Nichols JJ, Tsubota K, Stapleton F. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf* 2017; 15: 276–283.
97. Svirnovski AI. Study of the effect of the state of reparative regeneration of normal hemopoietic tissue on the leukemic process. *Bull Soc Sci Med Grand Duche Luxemb* 1992; 129: 37–41.
98. Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer. *Curr Eye Res* 1993; 12: 247–54.
99. Linton RG, Curnow DH, Riley WJ. The Meibomian Glands: An Investigation Into The Secretion And Some Aspects Of The Physiology. *Br J Ophthalmol* 1961; 45: 718–23.
100. McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology* 1982; 89: 1173–80.
101. Arita R, Itoh K, Inoue K, Kuchiba A, Yamaguchi T, Amano S. Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology* 2009; 116: 379–84.
102. Goto E, Monden Y, Takano Y, Mori A, Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. Treatment of non-inflamed obstructive meibomian gland dysfunction

REFERENCIAS

- by an infrared warm compression device. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 1403–7.
103. Korb DR, Henriquez AS. Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc* 1980; 51: 243–51.
 104. Henriquez AS, Korb DR. Meibomian glands and contact lens wear. *Br J Ophthalmol* 1981; 65: 108–11.
 105. Olami Y, Zajicek G, Cogan M, Gnessin H, Pe'er J. Turnover and migration of meibomian gland cells in rats' eyelids. *Ophthalmic Res* 2001; 33: 170–5.
 106. Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982; 94: 383–7.
 107. Alibardi L. Structural and immunocytochemical characterization of keratinization in vertebrate epidermis and epidermal derivatives. *Int Rev Cytol* 2006; 253: 177–259.
 108. Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf* 2004; 2: 149–65.
 109. Shine WE, McCulley JP. Association of meibum oleic acid with meibomian seborrhea. *Cornea* 2000; 19: 72–4.
 110. Shrestha RK, Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Analysis of the composition of lipid in human meibum from normal infants, children, adolescents, adults, and adults with meibomian gland dysfunction using ¹H-NMR spectroscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 7350–8.
 111. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Differences in human meibum lipid composition with meibomian gland dysfunction using NMR and principal component analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 337–47.
 112. Borchman D, Ramasubramanian A. Human meibum chain branching variability with age, gender and meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2019; 17: 327–335.
 113. Sledge S, Henry C, Borchman D, Yappert MC, Bhola R, Ramasubramanian A, Blackburn R, Austin J, Massey K, Sayied S, Williams A, Georgiev G, Schikler KN. Human Meibum Age, Lipid-Lipid Interactions and Lipid Saturation in Meibum from Infants. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 1862.

REFERENCIAS

114. Borchman D, Yappert MC, Milliner SE, Duran D, Cox GW, Smith RJ, Bhola R. ¹³C and ¹H NMR ester region resonance assignments and the composition of human infant and child meibum. *Exp Eye Res* 2013; 112: 151–9.
115. Borchman D, Ramasubramanian A, Foulks GN. Human Meibum Cholesteryl and Wax Ester Variability With Age, Sex, and Meibomian Gland Dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 2286–2293.
116. Blackie CA, Folly E, Ruppenkamp J, Holy C. Prevalence of Meibomian Gland dysfunction – a systematic review and analysis of published evidence. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 2736–2736.
117. Viso E, Rodríguez-Ares MT, Abelenda D, Oubiña B, Gude F. Prevalence of asymptomatic and symptomatic meibomian gland dysfunction in the general population of Spain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 2601–6.
118. Arita R, Mizoguchi T, Kawashima M, Fukuoka S, Koh S, Shirakawa R, Suzuki T, Morishige N. Meibomian Gland Dysfunction and Dry Eye Are Similar but Different Based on a Population-Based Study: The Hirado-Takushima Study in Japan. *Am J Ophthalmol* 2019; 207: 410–418.
119. Jastaneiah S, Al-Rajhi AA. Association of aniridia and dry eyes. *Ophthalmology* 2005; 112: 1535–40.
120. Auw-Haedrich C, Reinhard T. [Chronic blepharitis. Pathogenesis, clinical features, and therapy]. *Ophthalmologe* 2007; 104: 817–26; quiz 827–8.
121. Jackson WB. Blepharitis: current strategies for diagnosis and management. *Can J Ophthalmol* 2008; 43: 170–9.
122. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester J v. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea* 1991; 10: 277–85.
123. McCulley JP. Blepharoconjunctivitis. *Int Ophthalmol Clin* 1984; 24: 65–77.
124. McCulley JP, Shine WE. Eyelid disorders: the meibomian gland, blepharitis, and contact lenses. *Eye Contact Lens* 2003; 29: S93-5; discussion S115-8, S192-4.
125. Marren SE. Contact lens wear, use of eye cosmetics, and meibomian gland dysfunction. *Optometry and Vision Science* 1994; 71: 60–62.

REFERENCIAS

126. Molinari JF, Stanek S. Meibomian gland status and prevalence of giant papillary conjunctivitis in contact lens wearers. *Optometry* 2000; 71: 459–61.
127. Ong BL, Larke JR. Meibomian gland dysfunction: some clinical, biochemical and physical observations. *Ophthalmic and Physiological Optics* 1990; 10: 144–148.
128. Hom MM, Martinson JR, Knapp LL, Paugh JR. Prevalence of meibomian gland dysfunction. *Optometry and Vision Science* 1990; 67: 710–712.
129. Pucker AD, Jones-Jordan LA, Li W, Kwan JT, Lin MC, Sickenberger W, Marx S, Srinivasan S, Jones LW. Associations with Meibomian Gland Atrophy in Daily Contact Lens Wearers. *Optom Vis Sci* 2015; 92: e206–e213.
130. Czepita D, Kuźna-Grygiel W, Czepita M, Grobelny A. Demodex folliculorum and Demodex brevis as a cause of chronic marginal blepharitis. *Ann Acad Med Stetin* 2007; 53: 63–7; discussion 67.
131. Kheirkhah A, Casas V, Li W, Raju VK, Tseng SCG. Corneal manifestations of ocular demodex infestation. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 743–749.
132. Kojima T, Dogru M, Matsumoto Y, Goto E, Tsubota K. Tear film and ocular surface abnormalities after eyelid tattooing. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2005; 21: 69–71.
133. Gonnering RS, Sonneland PR. Meibomian gland dysfunction in floppy eyelid syndrome. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 1987; 3: 99–103.
134. Mathers WD, Billborough M. Meibomian gland function and giant papillary conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1992; 114: 188–92.
135. Martin NF, Rubinfeld RS, Malley JD, Manzitti V. Giant papillary conjunctivitis and meibomian gland dysfunction blepharitis. *CLAO J* 1992; 18: 165–9.
136. Baden HP, Imber M. Ichthyosis with an unusual constellation of ectodermal dysplasias. *Clin Genet* 1989; 35: 455–61.
137. Farjo AA, Halperin GI, Syed N, Sutphin JE, Wagoner MD. Salzmann's nodular corneal degeneration clinical characteristics and surgical outcomes. *Cornea* 2006; 25: 11–5.
138. Smith JA, Albenz J, Begley C, Caffery B, Nichols K, Schaumberg D, Schein O. The epidemiology of dry eye disease: report of the

REFERENCIAS

- Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007; 5: 93–107.
139. Hykin PG, Bron AJ. Age-related morphological changes in lid margin and meibomian gland anatomy. *Cornea* 1992; 11: 334–42.
 140. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol* 2009; 127: 763–8.
 141. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003; 136: 318–26.
 142. Krenzer KL, Dana MR, Ullman MD, Cermak JM, Tolls DB, Evans JE, Sullivan DA. Effect of androgen deficiency on the human meibomian gland and ocular surface. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4874–82.
 143. Sullivan BD, Evans JE, Krenzer KL, Reza Dana M, Sullivan DA. Impact of antiandrogen treatment on the fatty acid profile of neutral lipids in human meibomian gland secretions. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4866–73.
 144. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, Schirra F, Yamagami H, Liu M, Richards SM, Suzuki T, Schaumberg DA, Sullivan RM, Dana MR. Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 966: 211–22.
 145. Cermak JM, Krenzer KL, Sullivan RM, Dana MR, Sullivan DA. Is complete androgen insensitivity syndrome associated with alterations in the meibomian gland and ocular surface? *Cornea* 2003; 22: 516–521.
 146. Sullivan BD, Evans JE, Cermak JM, Krenzer KL, Dana MR, Sullivan DA. Complete androgen insensitivity syndrome: effect on human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 1689–1699.
 147. Ena P, Pinna A, Carta F. Discoid lupus erythematosus of the eyelids associated with staphylococcal blepharitis and Meibomian gland dysfunction. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 77–9.
 148. Kaercher T. Ocular symptoms and signs in patients with ectodermal dysplasia syndromes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242: 495–500.
 149. Mathers WD, Stovall D, Lane JA, Zimmerman MB, Johnson S. Menopause and tear function: the influence of prolactin and sex hormones on human tear production. *Cornea* 1998; 17: 353–8.

REFERENCIAS

150. Tamer C, Melek IM, Duman T, Oksüz H. Tear film tests in Parkinson's disease patients. *Ophthalmology* 2005; 112: 1795.
151. Iovine A, Fimiani F, Vassallo P, Alessio M, Magli A. Ocular manifestations in a case of childhood cicatricial pemphigoid. *Eur J Ophthalmol* 2008; 18: 636–8.
152. Yavas GF, Ozturk F, Kusbeci T, Ermis SS, Yilmazer M, Cevrioglu S, Aktepe F, Kose S. Meibomian gland alterations in polycystic ovary syndrome. *Curr Eye Res* 2008; 33: 133–8.
153. Horwath-Winter J, Flögel I, Ramschak-Schwarzer S, Hofer A, Kroisel PM. [Psoriasis and hypogonadism in chronic blepharokeratoconjunctivitis. A case report]. *Ophthalmologe* 2002; 99: 380–3.
154. Zengin N, Tol H, Balevi S, Gündüz K, Okudan S, Endoğru H. Tear film and meibomian gland functions in psoriasis. *Acta Ophthalmol Scand* 1996; 74: 358–60.
155. Akpek EK, Merchant A, Pinar V, Foster CS. Ocular rosacea: patient characteristics and follow-up. *Ophthalmology* 1997; 104: 1863–7.
156. Alvarenga LS, Mannis MJ. Ocular rosacea. *Ocul Surf* 2005; 3: 41–58.
157. Zengin N, Tol H, Gündüz K, Okudan S, Balevi S, Endoğru H. Meibomian gland dysfunction and tear film abnormalities in rosacea. *Cornea* 1995; 14: 144–6.
158. Zuber TJ. Rosacea. *Prim Care* 2000; 27: 309–18.
159. Zuber TJ. Rosacea: beyond first blush. *Hosp Pract (1995)* 1997; 32: 188–9.
160. Goto E, Matsumoto Y, Kamoi M, Endo K, Ishida R, Dogru M, Kaido M, Kojima T, Tsubota K. Tear evaporation rates in Sjögren syndrome and non-Sjögren dry eye patients. *Am J Ophthalmol*; 144. Epub ahead of print 2007. DOI: 10.1016/J.AJO.2007.03.055.
161. Pflugfelder SC, Huang AJW, Feuer W, Chuchovski PT, Pereira IC, Tseng SCG. Conjunctival cytologic features of primary Sjögren's syndrome. *Ophthalmology* 1990; 97: 985–991.
162. Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1998; 105: 1485–8.
163. Sotozono C, Ang LPK, Koizumi N, Higashihara H, Ueta M, Inatomi T, Yokoi N, Kaido M, Dogru M, Shimazaki J, Tsubota K, Yamada M,

REFERENCIAS

- Kinoshita S. New grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology* 2007; 114: 1294–302.
164. di Pascuale MA, Espana EM, Liu DT-S, Kawakita T, Li W, Gao YY, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, Raju V-K, Tseng SCG. Correlation of corneal complications with eyelid cicatricial pathologies in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis syndrome. *Ophthalmology* 2005; 112: 904–12.
165. Caffery BE, Josephson JE. Ocular side effects of isotretinoin therapy. *J Am Optom Assoc* 1988; 59: 221–4.
166. Egger SF, Huber-Spitzy V, Böhler K, Raff M, Scholda C, Barisani T, Vecsei VP. Ocular side effects associated with 13-cis-retinoic acid therapy for acne vulgaris: clinical features, alterations of tearfilm and conjunctival flora. *Acta Ophthalmol Scand* 1995; 73: 355–7.
167. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester J v. Meibomian gland morphology and tear osmolarity: Changes with accutane therapy. *Cornea* 1991; 10: 286–290.
168. Chia EM, Mitchell P, Rochtchina E, Lee AJ, Maroun R, Wang JJ. Prevalence and associations of dry eye syndrome in an older population: the Blue Mountains Eye Study. *Clin Exp Ophthalmol* 2003; 31: 229–232.
169. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 1264–8.
170. Ousler GW, Gomes PJ, Welch D, Abelson MB. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005; 3: 143–54.
171. Barabino S, Rolando M, Camicione P, Ravera G, Zanardi S, Giuffrida S, Calabria G. Systemic linoleic and gamma-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with an inflammatory component. *Cornea* 2003; 22: 97–101.
172. Creuzot C, Passemard M, Viau S, Joffre C, Pouliquen P, Elena PP, Bron A, Brignole F. [Improvement of dry eye symptoms with polyunsaturated fatty acids]. *J Fr Ophtalmol* 2006; 29: 868–873.
173. Kokke KH, Morris JA, Lawrenson JG. Oral omega-6 essential fatty acid treatment in contact lens associated dry eye. *Cont Lens Anterior Eye* 2008; 31: 141–146.
174. Macsai MS. The role of omega-3 dietary supplementation in blepharitis and meibomian gland dysfunction (an AOS thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2008; 106: 336–56.

REFERENCIAS

175. Miljanović B, Trivedi KA, Dana MR, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. Relation between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 887–893.
176. Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, Barabino S, Schaumberg DA, Dana MR. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 219–225.
177. Viau S, Maire MA, Pasquis B, Grégoire S, Acar N, Bron AM, Bretillon L, Creuzot-Garcher CP, Joffre C. Efficacy of a 2-month dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids in dry eye induced by scopolamine in a rat model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009; 247: 1039–1050.
178. Erdem U, Ozdegirmenci O, Sobaci E, Sobaci G, Göktolga U, Dagli S. Dry eye in post-menopausal women using hormone replacement therapy. *Maturitas* 2007; 56: 257–62.
179. Schaumberg DA, Buring JE, Sullivan DA, Reza Dana MR. Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. *JAMA* 2001; 286: 2114–2119.
180. Soriano D, Ferrandez B, Mateo A, Polo V, Garcia-Martin E. Meibomian Gland Changes in Open-angle Glaucoma Users Treated with Topical Medication. *Optom Vis Sci* 2021; 98: 1177–1182.
181. Blackie CA, Korb DR. Recovery time of an optimally secreting meibomian gland. *Cornea* 2009; 28: 293–7.
182. Blackie CA, Korb DR. The diurnal secretory characteristics of individual meibomian glands. *Cornea* 2010; 29: 34–8.
183. Appelbaum FR, Sullivan KM, Thomas ED, Buckner CD, Clift RA, Deeg HJ, Neiman PE, Sanders JE, Stewart P, Storb R. Allogeneic marrow transplantation in the treatment of MOPP-resistant Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1490–4.
184. Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Furuta A, Fukuoka S, Tomidokoro A, Amano S. Proposed diagnostic criteria for obstructive meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology* 2009; 116: 2058–63.e1.
185. Begley CG, Caffery B, Chalmers RL, Mitchell GL, Dry Eye Investigation (DREI) Study Group. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. *Cornea* 2002; 21: 664–70.

REFERENCIAS

186. Sakane Y, Yamaguchi M, Yokoi N, Uchino M, Dogru M, Oishi T, Ohashi Y, Ohashi Y. Development and validation of the Dry Eye-Related Quality-of-Life Score questionnaire. *JAMA Ophthalmol* 2013; 131: 1331–8.
187. Chalmers RL, Begley CG, Caffery B. Validation of the 5-Item Dry Eye Questionnaire (DEQ-5): Discrimination across self-assessed severity and aqueous tear deficient dry eye diagnoses. *Cont Lens Anterior Eye* 2010; 33: 55–60.
188. Abetz L, Rajagopalan K, Mertzanis P, Begley C, Barnes R, Chalmers R, Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL) Study Group. Development and validation of the impact of dry eye on everyday life (IDEEL) questionnaire, a patient-reported outcomes (PRO) measure for the assessment of the burden of dry eye on patients. *Health Qual Life Outcomes* 2011; 9: 111.
189. McMonnies CW, Ho A. Responses to a dry eye questionnaire from a normal population. *J Am Optom Assoc* 1987; 58: 588–91.
190. Miller KL, Walt JG, Mink DR, Satram-Hoang S, Wilson SE, Perry HD, Asbell PA, Pflugfelder SC. Minimal clinically important difference for the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol* 2010; 128: 94–101.
191. Schaumberg DA, Gulati A, Mathers WD, Clinch T, Lemp MA, Nelson JD, Foulks GN, Dana R. Development and validation of a short global dry eye symptom index. *Ocul Surf* 2007; 5: 50–7.
192. Blackie CA, Solomon JD, Scaffidi RC, Greiner J v, Lemp MA, Korb DR. The relationship between dry eye symptoms and lipid layer thickness. *Cornea* 2009; 28: 789–94.
193. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, Gupta PK, Karpecki P, Lazreg S, Pult H, Sullivan BD, Tomlinson A, Tong L, Villani E, Yoon KC, Jones L, Craig JP. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf* 2017; 15: 539–574.
194. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, Feuer W, Reis BL. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998; 17: 38–56.
195. Isreb MA, Greiner J v, Korb DR, Glonek T, Mody SS, Finnemore VM, Reddy C v. Correlation of lipid layer thickness measurements with fluorescein tear film break-up time and Schirmer's test. *Eye (Lond)* 2003; 17: 79–83.

REFERENCIAS

196. Nichols JJ, Nichols KK, Puent B, Saracino M, Mitchell GL. Evaluation of tear film interference patterns and measures of tear break-up time. *Optom Vis Sci* 2002; 79: 363–9.
197. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003; 1: 107–26.
198. Shimazaki J. Definition and Diagnostic Criteria of Dry Eye Disease: Historical Overview and Future Directions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59: DES7–DES12.
199. Tapie R. Etude biomicroscopique des glandes de Meibomius. *Ann Ocul* 1977; 210: 637–348.
200. Arita R. Validity of noninvasive meibography systems: noncontact meibography equipped with a slit-lamp and a mobile pen-shaped meibograph. *Cornea* 2013; 32 Suppl 1: S65-70.
201. Wong S, Srinivasan S, Murphy PJ, Jones L. Comparison of meibomian gland dropout using two infrared imaging devices. *Cont Lens Anterior Eye* 2019; 42: 311–317.
202. Schmidl D, Schlatter A, Chua J, Tan B, Garhöfer G, Schmetterer L. Novel Approaches for Imaging-Based Diagnosis of Ocular Surface Disease. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10: 589.
203. Bizheva K, Lee P, Sorbara L, Hutchings N, Simpson T. In vivo volumetric imaging of the human upper eyelid with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2010; 15: 040508.
204. Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci* 2012; 89: E760-9.
205. Gupta PK, Stevens MN, Kashyap N, Priestley Y. Prevalence of Meibomian Gland Atrophy in a Pediatric Population. *Cornea* 2018; 37: 426–430.
206. Daniel E, Maguire MG, Pistilli M, Bunya VY, Massaro-Giordano GM, Smith E, Kadakia PA, Asbell PA, Dry Eye Assessment and Management (DREAM) Study Research Group. Grading and baseline characteristics of meibomian glands in meibography images and their clinical associations in the Dry Eye Assessment and Management (DREAM) study. *Ocul Surf* 2019; 17: 491–501.

REFERENCIAS

207. Pult H, Riede-Pult BH, Nichols JJ. Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optom Vis Sci* 2012; 89: E310-5.
208. Koprowski R, Tian L, Olczyk P. A clinical utility assessment of the automatic measurement method of the quality of Meibomian glands. *Biomed Eng Online* 2017; 16: 82.
209. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea* 2004; 23: 762–70.
210. Yeotikar NS, Zhu H, Markoulli M, Nichols KK, Naduvilath T, Papas EB. Functional and Morphologic Changes of Meibomian Glands in an Asymptomatic Adult Population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 3996–4007.
211. Maïssa C, Guillon M. Tear film dynamics and lipid layer characteristics--effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye* 2010; 33: 176–82.
212. Mizoguchi T, Arita R, Fukuoka S, Morishige N. Morphology and Function of Meibomian Glands and Other Tear Film Parameters in Junior High School Students. *Cornea* 2017; 36: 922–926.
213. Bilkhu P, Vidal-Rohr M, Trave-Huarte S, Wolffsohn JS. Effect of meibomian gland morphology on functionality with applied treatment. *Cont Lens Anterior Eye*; 45. Epub ahead of print 1 April 2022. DOI: 10.1016/J.CLAE.2020.12.065.
214. Tichenor AA, Ziemanski JF, Ngo W, Nichols JJ, Nichols KK. Tear Film and Meibomian Gland Characteristics in Adolescents. *Cornea* 2019; 38: 1475–1482.
215. Akinsoji E, Goldhardt R, Galor A. A Glimpse into Uveitis in the Aging Eye: Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment Considerations. *Drugs Aging* 2018; 35: 399–408.
216. Ventura MT, Casciaro M, Gangemi S, Buquicchio R. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clin Mol Allergy* 2017; 15: 21.
217. Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea* 1996; 15: 229–34.
218. Guillon M, Maïssa C. Tear film evaporation--effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye* 2010; 33: 171–5.

REFERENCIAS

219. Patel S, Farrell JC. Age-related changes in precorneal tear film stability. *Optom Vis Sci* 1989; 66: 175–8.
220. Blackie CA, Korb DR, Knop E, Bedi R, Knop N, Holland EJ. Nonobvious obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2010; 29: 1333–45.
221. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br J Hosp Med (Lond)* 2019; 80: 33–39.
222. Sureda A, Bader P, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, Falkenburg JHF, Farge-Bancel D, Gennery A, Kröger N, Lanza F, Marsh JC, Nagler A, Peters C, Velardi A, Mohty M, Madrigal A. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50: 1037–56.
223. Choi SW, Levine JE, Ferrara JLM. Pathogenesis and management of graft-versus-host disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 2010; 30: 75–101.
224. Shikari H, Antin JH, Dana R. Ocular graft-versus-host disease: a review. *Surv Ophthalmol* 2013; 58: 233–51.
225. Lee SJ. Classification systems for chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2017; 129: 30–37.
226. Thomas E, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, Lerner KG, Glucksberg H, Buckner CD. Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med* 1975; 292: 832–43.
227. Claes K, Kestelyn P. Ocular manifestations of graft versus host disease following bone marrow transplantation. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 2000; 21–6.
228. Jabs DA, Wingard J, Green WR, Farmer ER, Vogelsang G, Saral R. The eye in bone marrow transplantation. III. Conjunctival graft-vs-host disease. *Arch Ophthalmol* 1989; 107: 1343–8.
229. Aki SZ, Inamoto Y, Carpenter PA, Storer BE, Sandmaier BM, Lee SJ, Martin PJ, Flowers MED. Confounding factors affecting the National Institutes of Health (NIH) chronic Graft-Versus-Host Disease Organ-Specific Score and global severity. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51: 1350–1353.
230. Harris AC, Young R, Devine S, Hogan WJ, Ayuk F, Bunworasate U, Chanswangphuwana C, Efebera YA, Holler E, Litzow M, Ordemann R, Qayed M, Renteria AS, Reshef R, Wöfl M, Chen Y-B, Goldstein S,

REFERENCIAS

- Jagasia M, Locatelli F, Mielke S, Porter D, Schechter T, Shekhovtsova Z, Ferrara JLM, Levine JE. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22: 4–10.
231. Kim SK. Ocular Graft vs. Host Disease. *Ocul Surf* 2005; 3: S-177-S-179.
232. Jacobs R, Tran U, Chen H, Kassim A, Engelhardt BG, Greer JP, Goodman SG, Clifton C, Lucid C, Vaughan LA, Savani BN, Jagasia M. Prevalence and risk factors associated with development of ocular GVHD defined by NIH consensus criteria. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 1470–3.
233. Espana EM, Shah S, Santhiago MR, Singh AD. Graft versus host disease: clinical evaluation, diagnosis and management. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251: 1257–66.
234. 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: 643–51.
235. Lass JH, Lazarus HM, Reed MD, Herzig RH. Topical corticosteroid therapy for corneal toxicity from systemically administered cytarabine. *Am J Ophthalmol* 1982; 94: 617–21.
236. Livesey SJ, Holmes JA, Whittaker JA. Ocular complications of bone marrow transplantation. *Eye (Lond)* 1989; 3 (Pt 3): 271–6.
237. Mencucci R, Rossi Ferrini C, Bosi A, Volpe R, Guidi S, Salvi G. Ophthalmological aspects in allogenic bone marrow transplantation: Sjögren-like syndrome in graft-versus-host disease. *Eur J Ophthalmol* 1997; 7: 13–8.
238. Fraunfelder FT, Meyer SM. Ocular toxicity of antineoplastic agents. *Ophthalmology* 1983; 90: 1–3.
239. McCulley JP, Shine WE. Meibomian secretions in chronic blepharitis. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438: 319–26.
240. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ishida R, Kojima T, Onguchi T, Yagi Y, Shimazaki J, Tsubota K. Efficacy of a new warm moist air device on tear functions of patients with simple meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2006; 25: 644–50.
241. Bitton E, Lacroix Z, Léger S. In-vivo heat retention comparison of eyelid warming masks. *Cont Lens Anterior Eye* 2016; 39: 311–5.

REFERENCIAS

242. Murakami DK, Blackie CA, Korb DR. All Warm Compresses Are Not Equally Efficacious. *Optom Vis Sci* 2015; 92: e327-33.
243. Murphy O, O' Dwyer V, Lloyd-Mckernan A. The Efficacy of Warm Compresses in the Treatment of Meibomian Gland Dysfunction and Demodex Folliculorum Blepharitis. *Curr Eye Res* 2020; 45: 563–575.
244. Beye. EyeXpress Eye Hydration System., <https://www.beye.com/product/eyexpress-eye-hydration-system> (accessed 14 December 2022).
245. Badawi D. TearCare® system extension study: evaluation of the safety, effectiveness, and durability through 12 months of a second TearCare treatment on subjects with dry eye disease. *Clinical Ophthalmology* 2019; Volume 13: 189–198.
246. Badawi D. A novel system, TearCare® for the treatment of the signs and symptoms of dry eye disease. *Clinical Ophthalmology* 2018; Volume 12: 683–694.
247. Kenrick CJ, Alloo SS. The Limitation of Applying Heat to the External Lid Surface: A Case of Recalcitrant Meibomian Gland Dysfunction. *Case Rep Ophthalmol* 2017; 8: 7–12.
248. Wang MTM, Gokul A, Craig JP. Temperature profiles of patient-applied eyelid warming therapies. *Cont Lens Anterior Eye* 2015; 38: 430–4.
249. Purslow C. Evaluation of the ocular tolerance of a novel eyelid-warming device used for meibomian gland dysfunction. *Cont Lens Anterior Eye* 2013; 36: 226–31.
250. Doan S, Chiambaretta F, Baudouin C. Evaluation of an eyelid warming device (Blephasteam®) for the management of ocular surface diseases in France: The ESPOIR study. *J Fr Ophtalmol* 2014; 37: 763–772.
251. Wang MTM, Feng J, Wong J, Turnbull PR, Craig JP. Randomised trial of the clinical utility of an eyelid massage device for the management of meibomian gland dysfunction. *Cont Lens Anterior Eye* 2019; 42: 620–624.
252. Liang Q, Liu H, Guo Y, Cui R, Li B, Wang N, Labbe A. [Clinical evaluation of a thermodynamic treatment system for meibomian gland dysfunction]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2015; 51: 924–31.
253. Greiner J v. A single LipiFlow® Thermal Pulsation System treatment improves meibomian gland function and reduces dry eye symptoms for 9 months. *Curr Eye Res* 2012; 37: 272–8.

REFERENCIAS

254. Greiner J v. Long-Term (3 Year) Effects of a Single Thermal Pulsation System Treatment on Meibomian Gland Function and Dry Eye Symptoms. *Eye Contact Lens* 2016; 42: 99–107.
255. Finis D, König C, Hayajneh J, Borrelli M, Schrader S, Geerling G. Six-Month Effects of a Thermodynamic Treatment for MGD and Implications of Meibomian Gland Atrophy. *Cornea* 2014; 33: 1265–1270.
256. Epitropoulos AT, Goslin K, Bedi R, Blackie CA. Meibomian gland dysfunction patients with novel Sjögren's syndrome biomarkers benefit significantly from a single vectored thermal pulsation procedure: a retrospective analysis. *Clinical Ophthalmology* 2017; Volume 11: 701–706.
257. Schallhorn CS, Schallhorn JM, Hannan S, Schallhorn SC. Effectiveness of an Eyelid Thermal Pulsation Procedure to Treat Recalcitrant Dry Eye Symptoms After Laser Vision Correction. *J Refract Surg* 2017; 33: 30–36.
258. Blackie CA, Coleman CA, Nichols KK, Jones L, Chen PQ, Melton R, Kading DL, O'Dell LE, Srinivasan S. A single vectored thermal pulsation treatment for meibomian gland dysfunction increases mean comfortable contact lens wearing time by approximately 4 hours per day. *Clinical Ophthalmology* 2018; Volume 12: 169–183.
259. Friedland BR, Fleming CP, Blackie CA, Korb DR. A Novel Thermodynamic Treatment for Meibomian Gland Dysfunction. *Curr Eye Res* 2011; 36: 79–87.
260. Zhao Y, Xie J, Li J, Fu Y, Lin X, Wang S, Ma J, Zhao Y. Evaluation of Monocular Treatment for Meibomian Gland Dysfunction with an Automated Thermodynamic System in Elderly Chinese Patients: A Contralateral Eye Study. *J Ophthalmol* 2016; 2016: 1–8.
261. Zhao Y, Veerappan A, Yeo S, Rooney DM, Acharya RU, Tan JH, Tong L. Clinical Trial of Thermal Pulsation (LipiFlow) in Meibomian Gland Dysfunction With Pretreatment Meibography. *Eye & Contact Lens: Science & Clinical Practice* 2016; 42: 339–346.
262. Yeo S, Tan JH, Acharya UR, Sudarshan VK, Tong L. Longitudinal Changes in Tear Evaporation Rates After Eyelid Warming Therapies in Meibomian Gland Dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 1974–1981.
263. Tauber J, Owen J, Bloomenstein M, Hovanesian J, Bullimore MA. Comparison of the iLUX and the LipiFlow for the Treatment of Meibomian

REFERENCIAS

- Gland Dysfunction and Symptoms: A Randomized Clinical Trial. *Clin Ophthalmol* 2020; 14: 405–418.
264. Hagen KB, Bedi R, Blackie CA, Christenson-Akagi KJ. Comparison of a single-dose vectored thermal pulsation procedure with a 3-month course of daily oral doxycycline for moderate-to-severe meibomian gland dysfunction. *Clin Ophthalmol* 2018; 12: 161–168.
265. Li D, Lin S-B, Cheng B. Intense Pulsed Light: From the Past to the Future. *Photomed Laser Surg* 2016; 34: 435–447.
266. Papageorgiou P, Clayton W, Norwood S, Chopra S, Rustin M. Treatment of rosacea with intense pulsed light: significant improvement and long-lasting results. *Br J Dermatol* 2008; 159: 628–32.
267. Xue AL, Wang MTM, Ormonde SE, Craig JP. Randomised double-masked placebo-controlled trial of the cumulative treatment efficacy profile of intense pulsed light therapy for meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2020; 18: 286–297.
268. Piyacomn Y, Kasetuwan N, Reinprayoon U, Satitpitakul V, Tesapirat L. Efficacy and Safety of Intense Pulsed Light in Patients With Meibomian Gland Dysfunction-A Randomized, Double-Masked, Sham-Controlled Clinical Trial: Erratum. *Cornea* 2020; 39: e18.
269. Wu Y, Li J, Hu M, Zhao Y, Lin X, Chen Y, Li L, Zhao Y-E. Comparison of two intense pulsed light patterns for treating patients with meibomian gland dysfunction. *Int Ophthalmol* 2020; 40: 1695–1705.
270. Huang X, Qin Q, Wang L, Zheng J, Lin L, Jin X. Clinical results of Intraductal Meibomian gland probing combined with intense pulsed light in treating patients with refractory obstructive Meibomian gland dysfunction: a randomized controlled trial. *BMC Ophthalmol* 2019; 19: 211.
271. Kent C. Devices for treating the meibomian glands. *Review of Ophthalmology*, <https://www.reviewofophthalmology.com/article/devices-for-treating-the-meibomian-glands> (2018, accessed 14 December 2022).
272. Yin Y, Liu N, Gong L, Song N. Changes in the Meibomian Gland After Exposure to Intense Pulsed Light in Meibomian Gland Dysfunction (MGD) Patients. *Curr Eye Res* 2018; 43: 308–313.
273. Arita R, Fukuoka S, Morishige N. Therapeutic efficacy of intense pulsed light in patients with refractory meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2019; 17: 104–110.

REFERENCIAS

274. Lam PY, Shih KC, Fong PY, Chan TCY, Ng AL-K, Jhanji V, Tong L. A Review on Evidence-Based Treatments for Meibomian Gland Dysfunction. *Eye Contact Lens* 2020; 46: 3–16.
275. Ma X, Lu Y. Efficacy of Intraductal Meibomian Gland Probing on Tear Function in Patients With Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2016; 35: 725–30.
276. Maskin SL, Testa WR. Growth of meibomian gland tissue after intraductal meibomian gland probing in patients with obstructive meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol* 2018; 102: 59–68.
277. Sarman ZS, Cucen B, Yuksel N, Cengiz A, Caglar Y. Effectiveness of Intraductal Meibomian Gland Probing for Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2016; 35: 721–724.
278. Syed ZA, Sutula FC. Dynamic Intraductal Meibomian Probing: A Modified Approach to the Treatment of Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2017; 33: 307–309.
279. Foulks GN, Borchman D, Yappert M, Kim S-H, McKay JW. Topical azithromycin therapy for meibomian gland dysfunction: clinical response and lipid alterations. *Cornea* 2010; 29: 781–8.
280. Li D-Q, Zhou N, Zhang L, Ma P, Pflugfelder SC. Suppressive effects of azithromycin on zymosan-induced production of proinflammatory mediators by human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 5623–9.
281. Foulks GN, Borchman D, Yappert M, Kakar S. Topical azithromycin and oral doxycycline therapy of meibomian gland dysfunction: a comparative clinical and spectroscopic pilot study. *Cornea* 2013; 32: 44–53.
282. Perry HD, Solomon R, Donnenfeld ED, Perry AR, Wittpenn JR, Greenman HE, Savage HE. Evaluation of topical cyclosporine for the treatment of dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 1046–50.
283. Perry HD, Doshi-Carnevale S, Donnenfeld ED, Solomon R, Biser SA, Bloom AH. Efficacy of commercially available topical cyclosporine A 0.05% in the treatment of meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2006; 25: 171–5.
284. Prabhasawat P, Tesavibul N, Mahawong W. A randomized double-masked study of 0.05% cyclosporine ophthalmic emulsion in the treatment of meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2012; 31: 1386–93.

REFERENCIAS

285. Rubin M, Rao SN. Efficacy of topical cyclosporin 0.05% in the treatment of posterior blepharitis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006; 22: 47–53.
286. Lee H, Chung B, Kim KS, Seo KY, Choi BJ, Kim T-I. Effects of topical loteprednol etabonate on tear cytokines and clinical outcomes in moderate and severe meibomian gland dysfunction: randomized clinical trial. *Am J Ophthalmol* 2014; 158: 1172-1183.e1.
287. Torkildsen GL, Cockrum P, Meier E, Hammonds WM, Silverstein B, Silverstein S. Evaluation of clinical efficacy and safety of tobramycin/dexamethasone ophthalmic suspension 0.3%/0.05% compared to azithromycin ophthalmic solution 1% in the treatment of moderate to severe acute blepharitis/blepharoconjunctivitis. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 171–8.
288. Ali A. Abusharha EIP. The Effect of Low Humidity on the Human Tear Film. *Cornea* 2013; 32: 429–434.
289. Bartlett JD, Keith MS, Sudharshan L, Snedecor SJ. Associations between signs and symptoms of dry eye disease: a systematic review. *Clin Ophthalmol* 2015; 9: 1719–30.
290. Tesón M, López-Miguel A, Neves H, Calonge M, González-García MJ, González-Méijome JM. Influence of Climate on Clinical Diagnostic Dry Eye Tests: Pilot Study. *Optom Vis Sci* 2015; 92: e284-9.
291. Calonge M, Pinto-Fraga J, González-García MJ, Enríquez-de-Salamanca A, López-de la Rosa A, Fernández I, López-Miguel A. Effects of the External Environment on Dry Eye Disease. *Int Ophthalmol Clin* 2017; 57: 23–40.
292. López-de la Rosa A, Martín-Montañez V, López-Miguel A, Fernández I, Calonge M, González-Méijome JM, González-García MJ. Ocular response to environmental variations in contact lens wearers. *Ophthalmic Physiol Opt* 2017; 37: 60–70.
293. Meerovitch K, Torkildsen G, Lonsdale J, Goldfarb H, Lama T, Cumberland G, Ousler GW. Safety and efficacy of MIM-D3 ophthalmic solutions in a randomized, placebo-controlled Phase 2 clinical trial in patients with dry eye. *Clin Ophthalmol* 2013; 7: 1275–85.
294. Petrov A, Perekhvatoва N, Skulachev M, Stein L, Ousler G. SkQ1 Ophthalmic Solution for Dry Eye Treatment: Results of a Phase 2 Safety and Efficacy Clinical Study in the Environment and During Challenge in the Controlled Adverse Environment Model. *Adv Ther* 2016; 33: 96–115.

REFERENCIAS

295. Pinto-Fraga J, López-Miguel A, González-García MJ, Fernández I, López-de-la-Rosa A, Enríquez-de-Salamanca A, Stern ME, Calonge M. Topical Fluorometholone Protects the Ocular Surface of Dry Eye Patients from Desiccating Stress: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Ophthalmology* 2016; 123: 141–53.
296. Tomlinson A, Madden LC, Simmons PA. Effectiveness of dry eye therapy under conditions of environmental stress. *Curr Eye Res* 2013; 38: 229–36.
297. Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, López-de la Rosa A, López-Miguel A, Fernández I, Calonge M, González-Méijome JM, González-García MJ. Effect of Environmental Conditions on the Concentration of Tear Inflammatory Mediators During Contact Lens Wear. *Cornea* 2016; 35: 1192–8.
298. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A, Foulks GN, Geerling G, Pepose JS, Kosheleff V, Porreco A, Lemp MA. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 6125–30.
299. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 615–21.
300. Dougherty BE, Nichols JJ, Nichols KK. Rasch analysis of the Ocular Surface Disease Index (OSDI). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 8630–5.
301. Zhao Y, Tan CLS, Tong L. Intra-observer and inter-observer repeatability of ocular surface interferometer in measuring lipid layer thickness. *BMC Ophthalmol* 2015; 15: 53.
302. Efron N. Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt* 1998; 18: 182–6.
303. Terry RL, Schnider CM, Holden BA, Cornish R, Grant T, Sweeney D, la Hood D, Back A. CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optom Vis Sci* 1993; 70: 234–43.
304. Yamaguchi M, Kutsuna M, Uno T, Zheng X, Kodama T, Ohashi Y. Marx line: fluorescein staining line on the inner lid as indicator of meibomian gland function. *Am J Ophthalmol* 2006; 141: 669–75.
305. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003; 22: 640–50.

REFERENCIAS

306. Bunn A, Korpela M. R. A language and environment for statistical computing. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1016/j.dendro.2008.01.002.
307. Beucher S, Meyer F. The Morphological Approach to Segmentation: The Watershed Transformation. In: *Mathematical Morphology in Image Processing*. CRC Press, 2019, pp. 433–481.
308. Rigby RA, Stasinopoulos DM, Lane PW. Generalized additive models for location, scale and shape. *J R Stat Soc Ser C Appl Stat* 2005; 54: 507–554.
309. Fernández I, Enríquez-De-salamanca A, Portero A, García-Vázquez C, Calonge M, Herreras JM. Age-and sex-adjusted reference intervals in tear cytokine levels in healthy subjects. *Applied Sciences (Switzerland)* 2021; 11: 8958.
310. Gu T, Du B, Bi H, Zhou L, Liu G, Jin N, Liu Z, Zhang B, Wei R. Meibomian Gland Dropout, not Distortion, Can Distinguish Dry Eyes from Normal Eyes in Contact Lens Wearers. *Current Eye Research* 2020; 45: 897–903.
311. Lin X, Fu Y, Li L, Chen C, Chen X, Mao Y, Lian H, Yang W, Dai Q. A Novel Quantitative Index of Meibomian Gland Dysfunction, the Meibomian Gland Tortuosity. *Transl Vis Sci Technol* 2020; 9: 34.
312. Chen X, Badian RA, Hynne H, Tashbayev B, Hove LH, Jensen JL, Utheim TP. Morphology of Meibomian Glands in a 65-Year-Old Norwegian Population without Dry Eye Disease. *J Clin Med* 2022; 11: 527.
313. Llorens-Quintana C, Rico-Del-Viejo L, Syga P, Madrid-Costa D, Iskander DR. Meibomian Gland Morphology: The Influence of Structural Variations on Gland Function and Ocular Surface Parameters. *Cornea* 2019; 38: 1506–1512.
314. Pucker AD, Jones-Jordan LA, Kunnen CME, Marx S, Powell DR, Kwan JT, Srinivasan S, Sickenberger W, Jones L, Contact Lens Assessment of Symptomatic Subjects (CLASS) Study Group. Impact of meibomian gland width on successful contact lens use. *Cont Lens Anterior Eye* 2019; 42: 646–651.
315. Uchino M, Nishiwaki Y, Michikawa T, Shirakawa K, Kuwahara E, Yamada M, Dogru M, Schaumberg DA, Kawakita T, Takebayashi T, Tsubota K. Prevalence and risk factors of dry eye disease in Japan: Koumi study. *Ophthalmology* 2011; 118: 2361–7.

REFERENCIAS

316. Um S-B, Kim NH, Lee HK, Song JS, Kim HC. Spatial epidemiology of dry eye disease: findings from South Korea. *Int J Health Geogr* 2014; 13: 31.
317. Cuevas M, González-García MJ, Castellanos E, Quispaya R, Parra P de la, Fernández I, Calonge M. Correlations among symptoms, signs, and clinical tests in evaporative-type dry eye disease caused by Meibomian gland dysfunction (MGD). *Curr Eye Res* 2012; 37: 855–63.
318. Mackie IA, Seal D v. The questionably dry eye. *Br J Ophthalmol* 1981; 65: 2–9.
319. Akil H, Celik F, Ulas F, Kara IS. Dry Eye Syndrome and Allergic Conjunctivitis in the Pediatric Population. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2015; 22: 467–71.
320. Stapleton F, Bakkar M, Carnt N, Chalmers R, Vijay AK, Marasini S, Ng A, Tan J, Wagner H, Woods C, Wolffsohn JS. CLEAR - Contact lens complications. *Cont Lens Anterior Eye* 2021; 44: 330–367.
321. Lemp MA, Hamill JR. Factors affecting tear film breakup in normal eyes. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 103–5.
322. Abelson MB, Ousler GW, Nally LA, Welch D, Krenzer K. Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002; 506: 1121–5.
323. Eom Y, Lee J-S, Kang S-Y, Kim HM, Song J-S. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *Am J Ophthalmol* 2013; 155: 1104-1110.e2.
324. Giannaccare G, Vigo L, Pellegrini M, Sebastiani S, Carones F. Ocular Surface Workup With Automated Noninvasive Measurements for the Diagnosis of Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2018; 37: 740–745.
325. Nichols KK, Ham BM, Nichols JJ, Ziegler C, Green-Church KB. Identification of fatty acids and fatty acid amides in human meibomian gland secretions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 34–9.
326. Yang S, Lee HJ, Kim D-Y, Shin S, Barabino S, Chung S-H. The Use of Conjunctival Staining to Measure Ocular Surface Inflammation in Patients With Dry Eye. *Cornea* 2019; 38: 698–705.
327. Yun J, Min JS. Skin temperature change in patients with meibomian gland dysfunction following intense pulsed light treatment. *Front Med (Lausanne)* 2022; 9: 893940.

REFERENCIAS

328. Gulmez Sevim D, Gumus K, Unlu M. Reliable, Noncontact Imaging Tool for the Evaluation of Meibomian Gland Function: Sirius Meibography. *Eye Contact Lens* 2020; 46 Suppl 2: S135–S140.
329. Yu X, Fu Y, Lian H, Wang D, Zhang Z, Dai Q. Uneven Meibomian Gland Dropout in Patients with Meibomian Gland Dysfunction and Demodex Infestation. *J Clin Med* 2022; 11: 5085.
330. Lee Y, Jang JH, Nam S, Lee K, Kim J, Kim JY, Tchah H, Lee H. Investigation of Prognostic Factors for Intense Pulsed Light Treatment with a Vascular Filter in Patients with Moderate or Severe Meibomian Gland Dysfunction. *J Clin Med* 2022; 11: 4724.
331. Fukuoka S, Arita R. Comparison of Intense Pulsed Light Therapy on Patients with Meibomian Gland Dysfunction Using AQUA CEL and M22 Devices. *J Clin Med* 2022; 11: 4265.
332. Fatima A, Vadla P, Konda N. Changes in the tear film and meibomian gland morphology between preclinical dry eye and normal subjects represented by ocular surface disease index scores. *Exp Eye Res* 2022; 222: 109188.
333. Pult H. Relationships Between Meibomian Gland Loss and Age, Sex, and Dry Eye. *Eye Contact Lens* 2018; 44 Suppl 2: S318–S324.
334. Rico-Del-Viejo L, Benítez-Del-Castillo JM, Gómez-Sanz FJ, García-Montero M, Llorens-Quintana C, Madrid-Costa D. The influence of meibomian gland loss on ocular surface clinical parameters. *Cont Lens Anterior Eye* 2019; 42: 562–568.
335. Crespo-Treviño RR, Salinas-Sánchez AK, Amparo F, Garza-Leon M. Comparative of meibomian gland morphology in patients with evaporative dry eye disease versus non-dry eye disease. *Sci Rep* 2021; 11: 20729.
336. Blanco-Vázquez M, Arroyo-Del-Arroyo C, Novo-Diez A, Cañadas P, López-de la Rosa A, González-García MJ. Is contact lens discomfort related to meibomian gland morphology? *Cont Lens Anterior Eye* 2022; 45: 101743.
337. Kim HM, Eom Y, Song JS. The Relationship Between Morphology and Function of the Meibomian Glands. *Eye Contact Lens* 2018; 44: 1–5.
338. Xiao J, Adil MY, Olafsson J, Chen X, Utheim ØA, Ræder S, Lagali NS, Dartt DA, Utheim TP. Diagnostic Test Efficacy of Meibomian Gland Morphology and Function. *Sci Rep* 2019; 9: 17345.

REFERENCIAS

339. Deng Y, Wang Q, Luo Z, Li S, Wang B, Zhong J, Peng L, Xiao P, Yuan J. Quantitative analysis of morphological and functional features in Meibography for Meibomian Gland Dysfunction: Diagnosis and Grading. *EClinicalMedicine* 2021; 40: 101132.
340. Eom Y, Choi K-E, Kang S-Y, Lee HK, Kim HM, Song JS. Comparison of meibomian gland loss and expressed meibum grade between the upper and lower eyelids in patients with obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea* 2014; 33: 448–52.
341. Finis D, Ackermann P, Pischel N, König C, Hayajneh J, Borrelli M, Schrader S, Geerling G. Evaluation of Meibomian Gland Dysfunction and Local Distribution of Meibomian Gland Atrophy by Non-contact Infrared Meibography. *Curr Eye Res* 2015; 40: 982–9.
342. Butovich IA, Lu H, McMahon A, Ketelson H, Senchyna M, Meadows D, Campbell E, Molai M, Linsenhardt E. Biophysical and morphological evaluation of human normal and dry eye meibum using hot stage polarized light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 87–101.
343. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Bell J, Wells E, Neravetla S, Greenstone V. Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 3805–17.
344. Straatsma BR. Cystic degeneration of the meibomian glands. *AMA Arch Ophthalmol* 1959; 61: 918–27.
345. Ji YW, Lee J, Lee H, Seo KY, Kim EK, Kim T-I. Automated Measurement of Tear Film Dynamics and Lipid Layer Thickness for Assessment of Non-Sjögren Dry Eye Syndrome With Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2017; 36: 176–182.
346. Friedman J, Hastie T, Tibshirani R. Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *J Stat Softw* 2010; 33: 1–22.
347. Lumley T. Analysis of Complex Survey Samples. *J Stat Softw* 2004; 9: 1–19.
348. Maino D, Tran S, Mehta F. Side effects of chemotherapeutic oculo-toxic agents: a review. *Clin Eye Vis Care* 2000; 12: 113–117.
349. Sidi Y, Douer D, Pinkhas J. Sicca syndrome in a patient with toxic reaction to busulfan. *JAMA* 1977; 238: 1951.

REFERENCIAS

350. Cruciani F, Tamanti N, Abdolrahimzadeh S, Franchi F, Gabrieli CB. Ocular toxicity of systemic chemotherapy with megadoses of carmustine and mitomycin. *Ann Ophthalmol* 1994; 26: 97–100.
351. Hamersley J, Luce JK, Florentz TR, Burkholder MM, Pepper JJ. Excessive lacrimation from fluorouracil treatment. *JAMA* 1973; 225: 747–8.
352. Morrow GL, Stein RM, Heathcote JG, Ikeda-Douglas J v, Feldman F. Ocular toxicity of mitomycin C and 5-fluorouracil in the rabbit. *Can J Ophthalmol* 1994; 29: 268–73.
353. Wu KY, Hong SJ, Huang HT, Lin CP, Chen CW. Toxic effects of mitomycin-C on cultured corneal keratocytes and endothelial cells. *J Ocul Pharmacol Ther* 1999; 15: 401–11.
354. Eom Y, Baek S, Kim HM, Song JS. Meibomian Gland Dysfunction in Patients With Chemotherapy-Induced Lacrimal Drainage Obstruction. *Cornea* 2017; 36: 572–577.
355. Zhao W, Yang J, Liao Y, Lao HY, Huang Q, Jin L, Sun J, Huang F, Liang L. Comparable meibomian gland changes in patients with and without ocular graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Ocul Surf* 2022; 25: 1–7.
356. Ban Y, Ogawa Y, Ibrahim OMA, Tatematsu Y, Kamoi M, Uchino M, Yaguchi S, Dogru M, Tsubota K. Morphologic evaluation of meibomian glands in chronic graft-versus-host disease using in vivo laser confocal microscopy. *Mol Vis* 2011; 17: 2533–43.
357. Dikmetas O, Kocabeyoglu S, Mocan MC. The Association between Meibomian Gland Atrophy and Corneal Subbasal Nerve Loss in Patients with Chronic Ocular Graft-versus-host Disease. *Curr Eye Res* 2021; 46: 796–801.
358. Yin Y, Gong L. Reversibility of Gland Dropout and Significance of Eyelid Hygiene Treatment in Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2017; 36: 332–337.
359. Giannaccare G, Bonifazi F, Sessa M, Dan E, Arpinati M, Fresina M, Bandini G, Cavo M, Versura P, Campos EC. Ocular surface analysis in hematological patients before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: implication for daily clinical practice. *Eye (Lond)* 2017; 31: 1417–1426.

REFERENCIAS

360. Ion D, Stevenson K, Woo S-B, Ho VT, Soiffer R, Antin JH, Treister NS. Characterization of oral involvement in acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20: 1717–21.
361. Fernández I, López-Miguel A, Enríquez-de-Salamanca A, Tesón M, Stern ME, González-García MJ, Calonge M. Response profiles to a controlled adverse desiccating environment based on clinical and tear molecule changes. *Ocul Surf* 2019; 17: 502–515.
362. Fernández I, López-Miguel A, Martín-Montañez V, Enríquez-de-Salamanca A, Calonge M, González-Méijome JM, González-García MJ. Inflammatory status predicts contact lens discomfort under adverse environmental conditions. *Ocul Surf* 2020; 18: 829–840.
363. Bijur PE, Silver W, Gallagher EJ. Reliability of the visual analog scale for measurement of acute pain. *Acad Emerg Med* 2001; 8: 1153–7.
364. Bandlitz S, Peter B, Pflugi T, Jaeger K, Anwar A, Bikhu P, Nosch DS, Wolffsohn JS. Agreement and repeatability of four different devices to measure non-invasive tear breakup time (NIBUT). *Cont Lens Anterior Eye* 2020; 43: 507–511.
365. Park J, Kim J, Lee H, Park M, Baek S. Functional and structural evaluation of the meibomian gland using a LipiView interferometer in thyroid eye disease. *Can J Ophthalmol* 2018; 53: 373–379.
366. Pucker AD, Nichols JJ. Analysis of meibum and tear lipids. *Ocular Surface* 2012; 10: 230–250.
367. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. *J Stat Softw* 2014; 67: 1–48.
368. Rune Haubo B Christensen. ordinal—Regression models for ordinal data, <https://cran.r-project.org/package=ordinal> (2019, accessed 14 December 2022).
369. Hura AS, Epitropoulos AT, Czyz CN, Rosenberg ED. Visible Meibomian Gland Structure Increases After Vectored Thermal Pulsation Treatment in Dry Eye Disease Patients with Meibomian Gland Dysfunction. *Clin Ophthalmol* 2020; 14: 4287–4296.
370. Halverson M, Rosenberg M, Hart R, Richman E, Athalye R, Winiarski D. Determination of energy savings: qualitative analysis.
371. Rubita. Thermal Comfort Assessment-A Study Toward Workers' Satisfaction in a Low Energy Office Building. *Am J Appl Sci* 2012; 9: 1037–1045.

REFERENCIAS

372. Psomas T, Teli D, Langer S, Wahlgren P, Wargocki P. Indoor humidity of dwellings and association with building characteristics, behaviors and health in a northern climate. *Build Environ* 2021; 198: 107885.
373. Satjawatcharaphong P, Ge S, Lin MC. Clinical Outcomes Associated with Thermal Pulsation System Treatment. *Optom Vis Sci* 2015; 92: e334-41.
374. Kim HJ, Park JH. Clinical Efficacy of Immediate Manual Meibomian Gland Expression After Thermal Pulsation (LipiFlow) for Obstructive Meibomian Gland Dysfunction: Comparison With Thermal Pulsation. *Cornea* 2020; 39: 975–979.
375. Li B, Fu H, Liu T, Xu M. Comparison of the therapeutic effect of Meibomian Thermal Pulsation LipiFlow® on obstructive and hyposecretory meibomian gland dysfunction patients. *Int Ophthalmol* 2020; 40: 3469–3479.
376. Inatsuki A, Yasukawa M, Kobayashi Y. The effect of human T cell leukaemia virus type I infection on a herpes simplex virus-specific CD8+ cytotoxic T cell clone. *Br J Haematol* 1991; 77: 311–4.
377. Pang S-P, Chen Y-T, Tam K-W, Lin I-C, Loh E-W. Efficacy of Vectored Thermal Pulsation and Warm Compress Treatments in Meibomian Gland Dysfunction: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Cornea* 2019; 38: 690–697.
378. Wolkoff P, Nøjgaard JK, Troiano P, Piccoli B. Eye complaints in the office environment: precorneal tear film integrity influenced by eye blinking efficiency. *Occup Environ Med* 2005; 62: 4–12.
379. Alex A, Edwards A, Hays JD, Kerkstra M, Shih A, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Factors predicting the ocular surface response to desiccating environmental stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 3325–32.
380. Perez VL, Stern ME, Pflugfelder SC. Inflammatory basis for dry eye disease flares. *Exp Eye Res* 2020; 201: 108294.
381. Muntz A, Marasini S, Wang MTM, Craig JP. Prophylactic action of lipid and non-lipid tear supplements in adverse environmental conditions: A randomised crossover trial. *Ocul Surf* 2020; 18: 920–925.
382. Moore QL, de Paiva CS, Pflugfelder SC. Effects of Dry Eye Therapies on Environmentally Induced Ocular Surface Disease. *Am J Ophthalmol* 2015; 160: 135–42.e1.

IMPACTO DE LA PANDEMIA DE COVID-19 EN LA TESIS DOCTORAL

El proyecto de esta tesis doctoral se inició en el año 2018 y se ha finalizado en el año 2022. Este periodo de cinco años se ha visto afectado por la pandemia de COVID-19 iniciada en el año 2020 y por la consecuente situación de alerta sanitaria. En este apartado se recogen los aspectos más importantes del impacto de la pandemia en la realización y los resultados de la tesis doctoral.

Entre 2018 y 2019, se diseñaron los estudios que se incluyen en la tesis doctoral. Con respecto al estudio de la caracterización de las GM, la fase de reclutamiento tenía una duración prevista de 12 – 18 meses. Esta fase se inició en 2019 y finalmente se terminó en 2021 ya que no se pudo reclutar sujetos durante el periodo de confinamiento y, posteriormente, las limitaciones asociadas a la situación de emergencia sanitaria ralentizaron el proceso.

Con respecto al estudio de evaluación de la morfología de las GM en sujetos sometidos al trasplante de células hematopoyéticas, estaba previsto realizarlo en el primer trimestre de 2020. Sin embargo, al declararse la pandemia en marzo de ese año, la estancia tuvo que interrumpirse, de manera que solo pudo realizarse la primera parte del proyecto, correspondiente al desarrollo del software MeVisLab. Debido a las restricciones de movilidad impuestas durante ese año y el siguiente, la estancia se completó finalmente en el primer trimestre de 2022. En esta segunda fase se recogieron las imágenes de los sujetos sometidos al trasplante, aunque no se pudo acceder a los datos clínicos debido al protocolo de acceso al Hospital de Colonia por la alerta sanitaria.

Finalmente, con respecto al estudio de la evaluación del tratamiento con LipiFlow®, las restricciones de movilidad impuestas en 2020 impidieron que dos sujetos acudieran a la visita de los 12 meses de seguimiento.

A modo de resumen, se puede considerar que la pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto en la duración de la tesis doctoral ya que ha sido necesario ampliar el plazo de la fase experimental y organizar de nuevo la estancia internacional. Sin embargo, se puede concluir que se finalmente se han alcanzado los objetivos propuestos y se ha finalizado el proyecto.

DIFUSIÓN ASOCIADA A LA TESIS DOCTORAL

Publicación científica

Novo-Diez A, López-Miguel A, Fernández I, Blanco-Vázquez M, Valencia-Sandonís C, Enríquez-de-Salamanca A, González-García MJ, Calonge M. *Effect of a Single Vectored Thermal Pulsation Treatment of Meibomian Gland Dysfunction Patients under Controlled Environmental Conditions*. **Sci Rep**. 2022 Oct 6;12(1):16761. doi: 10.1038/s41598-022-20994-y.

Comunicaciones en congresos

Póster. Novo-Diez A, Blanco-Vázquez M, Arlanzón-Lope P, Valencia-Sandonís C, González-García MJ, Fernández I. *Reference intervals for Meibomian gland morphology in healthy subjects*. Association for Research in Vision and Ophthalmology annual meeting, **ARVO 2023**, Nueva Orleans, Estados Unidos.

Presentación oral. Novo-Diez A, Blanco-Vázquez M, Valencia-Sandonís C, López-Miguel A, Enríquez-de-Salamanca A, Fernández I, González-García MJ, Calonge M. *Efecto a largo plazo y en condiciones ambientales controladas del tratamiento con pulsación térmica en pacientes con disfunción de las glándulas de Meibomio*. Congreso de Optometría, lentes de contacto y Óptica oftálmica, **OPTOM 2022**. Madrid, España.

Póster. Novo-Diez A, Ferrero-Martín S, Blanco-Vázquez M, Valencia-Sandonís C, Fernández I, González-García MJ, Álvarez-González CM, Calonge M. *Cambios en la composición del meibum tras el tratamiento con pulsación térmica en pacientes con disfunción de las glándulas de*

Meibomio. Congreso de Optometría, lentes de contacto y Óptica oftálmica, **OPTOM 2022**. Madrid, España.

Póster. Novo-Diez A, Blanco-Vázquez M, Valencia-Sandonís C, Fernández I, González-García MJ, Calonge M. *Long-Term Evaluation of Thermal Pulsation System (Lipiflow®) Treatment for Ocular Surface Disease Due to Meibomian Gland Dysfunction Under Two Different Controlled Environments*. European Society of Cataract & Refractive Surgeons conference, **ESCRS 2021**, Ámsterdam, Países Bajos.

Divulgación científica

Presentación oral. Novo-Diez A. *Breaking the wall of computers in ocular diagnosis*. Falling Walls Lab Spain final contest, 2022, Madrid, España. Falling Walls Foundation.

Presentación oral. Novo-Diez A. *Efecto a largo plazo y en condiciones ambientales controladas del tratamiento con pulsación térmica en pacientes con disfunción de las glándulas de Meibomio*. VIII Jornadas de Investigadoras de Castilla y León: la aventura de la ciencia y la tecnología, 2022, León, España. Universidad de León, Universidad de Burgos, Universidad de Salamanca y Universidad de Valladolid.

Presentación oral. Novo-Diez A. *Análisis de imágenes para el diagnóstico del ojo seco*. Concurso Three-Minute Thesis (3MT®), 2021, Valladolid, España. Escuela de Doctorado de la Universidad de Valladolid.

Presentación oral. Novo-Diez A. *The role of computer image analysis in eye diseases*. VII International Conference IMFAHE Foundation, 2021. IMFAHE Foundation.

Presentación oral. Novo-Diez A. *Estudio de las glándulas de Meibomio: desde la caracterización al tratamiento.* V Jornada de investigadoras predoctorales de la UVA en Ciencias de la Visión, 2021, Valladolid, España. IOBA.

Póster. Novo-Diez A. *Caracterización de la función y morfología de las glándulas de Meibomio.* I Jornada de Investigación en Bioingeniería y Medicina, 2018, Valladolid, España. Escuela de Doctorado de la Universidad de Valladolid.

