



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ОЧНИ БОЛЕСТИ

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

За придобиване на образователна и научна степен
„ДОКТОР“ по научна специалност
„ОФТАЛМОЛОГИЯ“ шифър 03.01.36

СИНДРОМ НА „СУХО ОКО“ И ГЛАУКОМА

Д-р Антон Василев Василев

Научни ръководители:

Доц. д-р Виолета Чернодринска, д.м.

Доц. д-р Цветомир Димитров, д.м

Научен консултант:

Д-р Станислава Костова, д.м.

София, 2018г.

Съдържание:

I.	Използвани съкращения.....	4
II.	Въведение.....	5
III.	Литературен обзор.....	7
1.	Сухо око.....	8
	Дефиниция и класификация.....	8
	Епидемиология.....	11
	Физиология на слъзния филм.....	13
	Етиология и патогенеза на сухо око.....	20
	Рискови фактори.....	22
	Терапия на сухо око.....	25
2.	Глаукома.....	29
	Първична откритоъгълна глаукома.....	30
	Псевдоексфолиативна глаукома.....	32
3.	Връзка между глаукома и сухо око.....	34
4.	Субективни методи за оценка на сухо око.....	37
5.	Обективни методи за оценка на сухо око.....	38
	Слъзна продукция.....	39
	Стабилност на слъзния филм.....	43
	Оценка на очната повърхност.....	51
	Лабораторни тестове.....	54
	Други тестове.....	56
6.	Обобщение.....	57
	Цел и задачи.....	58
IV.	Пациенти и методи.....	59
1.	Подбор на пациенти.....	59
2.	Методи.....	60
	2.1. Снемане на анамнеза и определяне на очен статус.....	61
	2.2. Височина на долен слъзен мениск (LTMH, mm).....	61
	2.3. Измерване на неинвазивно време на разкъсване на слъзния филм (NIBUT ₁ , s; NIBUT _{AV} , s).....	62
	2.4. Оценка степента на булбарно зачервяване (RI).....	63
	2.5. Мейбография и определяне на процентната липса на мейбомиеви жлези (MGL, %; TMS).....	64
	2.6. Ширмер тест (ST, mm).....	65
	2.7. Измерване на централна роговична дебелина (CCT, μ m).....	65
	2.8. Статистически анализ на получените данни.....	65
V.	Резултати и Обсъждане.....	67

1.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 1</i> :	67
2.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 2</i> :	72
3.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 3</i> :	76
4.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 4</i> :	85
5.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 5</i> :	89
6.	Резултати и обсъждане по <i>Задача 6</i> :	95
VI.	Обобщение	99
VII.	Изводи	100
VIII.	Приноси	101
1.	Приноси с научно-теоретичен характер	101
2.	Приноси с научно-приложен характер	101
3.	Приноси с потвърдителен характер	102
IX.	Научна активност	102
1.	Публикации	102
2.	Участия в конгреси	103
X.	Приложения	104
XI.	Библиография	108

I. Използвани съкращения

На кирилица:

ВДСО- водно-дефицитно сухо око

ВОН- Вътреочно налягане

ЗК- здрави контроли

ПОЪГ- първична откритоъгълна глаукома

СЗО- Световна здравна организация

На латиница:

APC- антиген представящи клетки

BAK- benzalkonium chloride

BUT- break-up time; време за разкъсване на слъзния филм

CAI- карбоанхидразни инхибитори

CST- central corneal thickness; централна роговична дебелина

EGS- European Glaucoma Society

ICAM-1- екстрацелуларен лиганд

IFN- интерферон

IL- интерлевкин

LFA-1- левкоцитен трансмембранен интегрин

LIPCOF- Lid Parallel Conjunctival Folds; паралелни конюнктивални гънки

LMGL- lower eyelid Meibomian gland loss; загуба на жлези на долен клепач

LTMH- lower tear meniscus; долен слъзен мениск

MGD- Meibomian Gland Dysfunction; дисфункция на мейбомиевите жлези

NIBUT- Non Invasive Break-Up Time; неинвазивно време за разкъсване на слъзния филм

OCT- optical coherence tomography; оптична кохерентна томография

OSDI- ocular surface disease index

PG- простагландинови аналози

RI- redness index; индекс на булбарно зачервяване

ROC- Receiver Operating Characteristic Curve

ST- тест на Ширмер

TMH- tear meniscus height; височина на слъзен мениск

TMS- total meiboscore

UMGL- upper eyelid Meibomian gland loss; загуба на жлези на горен клепач

II. Въведение

Синдромът „Сухо око“ и глаукома са две напълно различни заболявания, тъй като първото касае очната повърхност, а второто- зрителния нерв. На пръв поглед не би следвало да се очаква връзка между двете нозологични единици. На практика обаче е установено, че такава асоциация съществува. Точният механизъм на зависимостта все още не е изяснен, но е обект на интензивни изследвания в последните години.

Сухо око представлява мултифакторно заболяване на очната повърхност, характеризиращо се с нарушена хомеостазна регулация на слъзния филм и съпътствано от очна симптоматика. Етиологична роля за развитието му играят хиперосмоларитет, увреда и възпаление на очната повърхност и невросензорна абнормалност [Stapleton et al., 2017; Craig et al., 2017]. Изследвани са множество фактори, които се асоциират с развитие на сухо око. С най-голямо значение сред тях се явяват възрастта, женският пол, носенето на контактни лещи, приложението на локални медикаменти и очната хирургия. Причините за наблюдаване на отрицателен ефект от тези въздействия са обект на задълбочени проучвания, включващи клинични, генетични, хормонални, биохимични и др. изследвания. Освен това значителна част от тях са насочени към разработване на автоматизирани, неинвазивни и обективни методи за изследване състоянието на очната повърхност. Съществуващите към момента тестове могат да се проведат с помощта на различни апарати и при различни условия, което променя интерпретацията на наблюдаваните стойности и затруднява сравняването между различни проучвания. Разнопосочните данни, които се откриват в литературата за честота на разпространение на синдрома и асоциацията му с други заболявания, се дължат на разлики в методите на диагностициране и особености на самата изследвана популация.

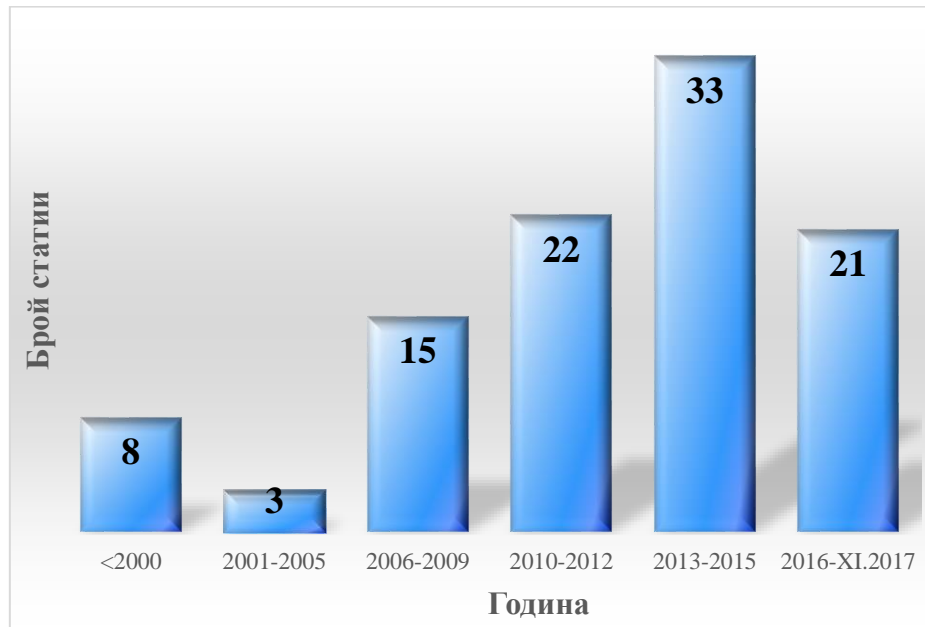
Глаукомата от своя страна представлява хронично прогресиращо нервно дегенеративно заболяване, засягащо очния нерв, и при липса на контрол води до загуба на зрителна функция. Най-широко разпространената форма е първичната откритоъгълна глаукома (ПОЪГ). Като първо средство на избор за лечението ѝ е локалната медикаментозна терапия с едно или повече лекарствени вещества. Използваните вещества принадлежат към групите на бета-блокери, простагландиновите аналози, алфа-2 агонисти, карбоанхидразни инхибитори и парасипатикомиметици. Адекватният контрол на повишеното вътреочно налягане, което е основна характеристика на ПОЪГ, изисква доживотно приложение на колири. Съществува схващането, че въздействието на

капките за очи е в основата на асоциацията на синдрома сухо око и гаукома. Но все още не е установено дали то се дължи единствено на самите лекарствени вещества или на съдържащите се в колирите помощни вещества и по-специално консерванти или комбинация от двете. Освен за влияние на консервантивното лечение върху връзката межд двете заболявания в литературата се откриват данни и за директна патофизиологична асоциация. Причина за това схващане е откриването на повишени нива на едни и същи фактори на възпалението като IL-4 и IL-6. Освен това сухо око се наблюдава и в началото на диагностициране на глаукомата, т.е. преди въвеждането на лекарствена терапия.

С оглед на наличната към момента информация по проблема настоящата работа разглежда обективно състоянието на очната повърхност при глаукомно болни пациенти в част от българското население. Дисертационният труд има за цел да разгледа моментния статус на слъзния филм и по-специално на неговата водна и липидна фаза при наличие на глаукома. Проведени са най-съвременни изследвания на мейбомиевите жлези, отговорни за продукцията на липиди, с помощта на безконтактна ИЧ мейбография. Стабилността на слъзния филм е оценена чрез неинвазивна автоматизирана методика. В допълнение са изследвани и други параметри, описващи състоянието на очната повърхност (като Ширмер тест, височина на долния слзен менис и степен на булбарно зачервяване). Изследвано е също влиянието на ПОЪГ и нейната локална терапия върху очната повърхност. Настоящото проучване е ново и актуално за България като използва за първи път инфрачервена мейбография за оценка на мейбомиевите жлези, както и оценява влиянието на ПОЪГ по отношение на развитие на сухо око сред част от населението на страната.

III. Литературен обзор

Интересът в областта на изследване, диагностициране и разбиране на механизмите и същността на проблема Сухо око при пациенти с глаукома през последните години нараства, което може да се види на фиг. 1.



Фиг.1 Разпределение на публикациите за “dry eye & glaucoma” по години въз основа на литературна справка в Science Direct, PubMed и Google Scholar.

При търсене на “dry eye & glaucoma” в заглавие, абстракт и ключови думи на статиите в основните бази данни (Science Direct, PubMed, Google Scholar) и след изключване на повтарящите се заглавия, бяха открити 102 статии. Направената литературна справка към ноември 2017г. (фиг. 1) показва повишаване на публикациите по темата. Почти липсва информация по темата до 2005 година (общо 11 статии), следо което броят им значително нараства. Това е показателно за актуалността на проблема. Въпреки че броят на научните съобщения напоследък расте, информацията за същността на проблема е противоречива и непълна. Наблюдавани са значителни несъответствия в получените данни при използване на различни техники и методи за диагностика, както и разлика в расовите и демографските характеристики на изследваните кохорти. В България информацията по проблема е съвсем ограничена и липсват данни за провеждане на обективни изследвания на очната повърхност сред пациенти с първична откритоъгълна глаукома.

1. Сухо око

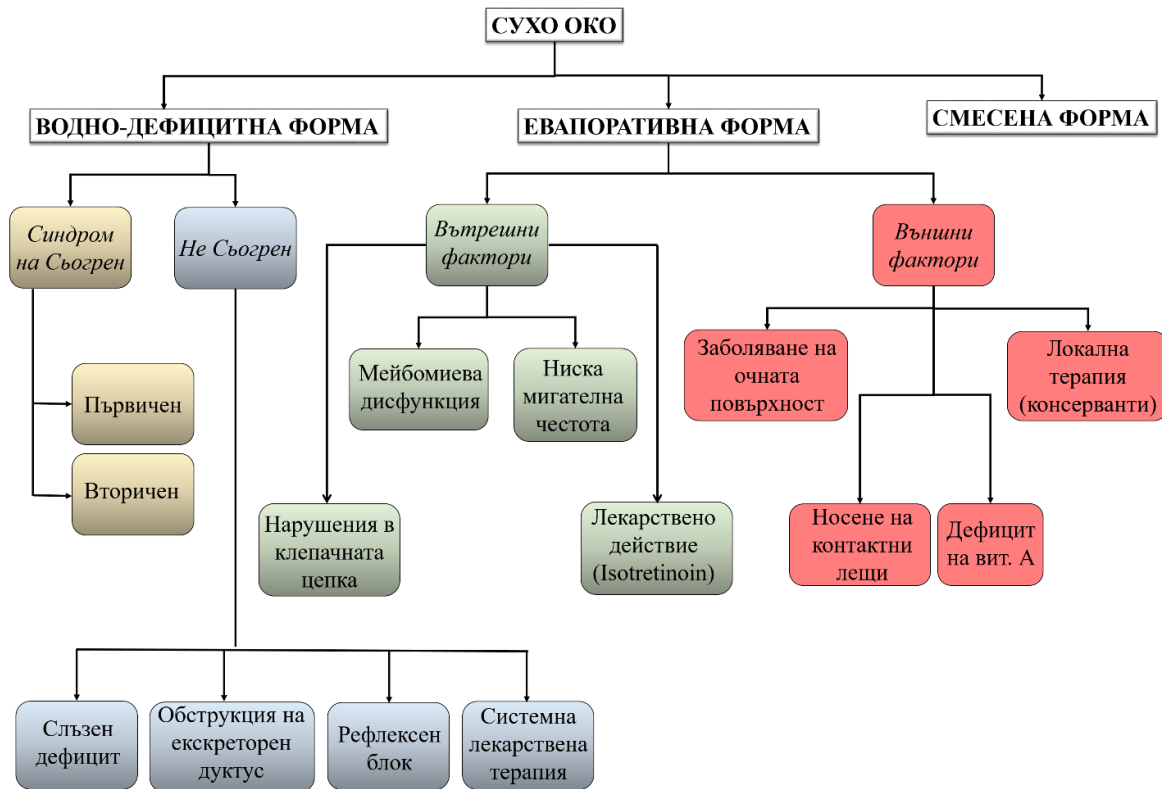
Дефиниция и класификация

Състоянието сухо око започва да се счита официално като заболяване преди малко повече от 30 години. Първото определение е дадено през 1995г. в период на критично и бързо развитие на познанията за заболяването [Nelson et al., 2017]. До днес тази дефиниция е претърпяла известни изменения, благодарение на нарастващата информация относно диагностиката и терапията. За първи път отделяне на сухо око като самостоятелна нозологична единица с мултифакторна етиология става през 2007г. повреме на първата работна група по сухо [Lemp et al., 2007]. През 2017г. се появява необходимостта за по-точна дефиниция, включваща не само основната очна симптоматика, но и етиологичните фактори, което довежда до последната дефиниция за заболяването:

Сухо око представлява мултифакторно заболяване на очната повърхност, характеризиращо се с нарушена хомеостазна регулация на слъзния филм и съпътствано от очна симптоматика. Етиологична роля за развитието му играят хиперосмоларитет, увреда и възпаление на очната повърхност и невросензорна абнормалност [Stapleton et al., 2017; Craig et al., 2017].

Под очна повърхност се разбират следните структури и аднекси на окото: роговица, конюнктива, клепачи, мигли, слъзен филм, основни и допълнителни слъзни жлези и мейбомиеви жлези [Nelson et al., 2011; Nichols et al., 2013]. В клиничната практика сухото око много често се описва като хронично и прогресиращо заболяване, но за момента липсват достатъчно данни, за да бъдат включени тези характеристики в дефиницията [Craig et al., 2017].

Точната класификация на заболяването позволява по-лесно диагностициране и последващо адекватно лечение на пациентите. До скоро се отличаваха две форми на сухо око - водно-дефицитна и евапоративна [Lemp, 1995]. Въпреки това, обаче, те не могат да се разглеждат като напълно различни, тъй като много често едната форма води до развитие и на другата [Craig et al., 2017]. Следователно не трябва да се пропуска и наличието на смесена форма на очна сухота (фиг. 2).



Фиг. 2 Етиологична класификация на сухо око [Linguist, 2010, Craig et al., 2017].

Според съвременните схващания евапоративният компонент в развитието на сухо око е по-често срещан от водно-дефицитния [Schimazaki et al., 1998; Lemp et al., 2012]. В действителност мейбомиевата дисфункция е основната причина за развитие на сухо око според клинични и популационни проучвания [Tong et al., 2010; Lemp et al., 2012; Viso et al., 2012].

При *водно-дефицитното сухо око* (ВДСО) се наблюдава понижена или влошена лакримална секреция. Може да се дължи на автоимунен процес, засягащ слъзните и слюнчените жлези (Синдром на Съогрен) или друга дисфункция на лакрималните жлези, обусловена от нарастване на възрастта, обструкция, рефлексна хипосекреция, както и променен хормонален статус [Viber, 2013]. Формата на сухота, свързана със *синдром на Съогрен* (СС), се характеризира с по-ранно начало, но клиничните симптоми и находки не се различават съществено от НеСъогрен формата (НСС). Те включват замъглено зрение, чувство за пясък и очен дискомфорт, както и нестабилност на слъзния филм, роговично и корнеално багрене, загуба на гоблетови клетки и епителна метаплазия [Pflugfelder et al., 1997; Kunert et al., 2002]. За пръв път едноименното заболяване е описано подробно от шведския офталмолог Хенрик Съогрен. В дисертационния си труд той охарактеризира заболяване, свързано с атрофия на екзокринни жлези, което се среща основно при жени. Основните симптоми на болестта са тежка сухота в очите и устната

кухина. Съогрен нарича това заболяване „*Keratoconjunctivitis sicca*“ [Sjogren, 1933]. Съвременните данни потвърждават, че СС се среща значително по-често при жени в сравнение с мъже (9:1 в полза на женския пол) [Schaumberg et al., 2009; Guillon et al., 2010; Galor et al., 2011]. Доказано е, че жени в пост-менопауза с променени нива на андрогенните хормони се характеризират с повишен риск от развитие на ВДСО [Feng et al., 2016]. Половите хормони и по-специално андрогените влияят върху мейбомиевите и слъзните жлези, конюнктивата и роговицата [Sullivan et al., 2017].

НеСъогрен водно-дефицитната форма (НСС) представлява вродена или придобита очна сухота, при която липсва проява на системни аутоимунни реакции. В зависимост от причината, водеща до влошаване в състоянието на очната повърхност, се подразделя на възрастово-обусловена, свързана с лакримален дефицит и фамилна дисавтономия [Bron et al., 2017]. Слъзната недостатъчност може да е в резултат на постоперативна лакримектомия [Scherz et al., 1975] или вродена алакримия [Hegab et al., 1991]. Възрастово-обуславената форма на НСС е най-често срещаната и днес тя отговаря на термина *Keratoconjunctivitis sicca* [Tsubota et al., 2017]. Повишаване на честотата на заболяемостта се отчита след 50 годишна възраст. Остаряването може да се дефинира като натрупване на промени в структурата и функцията на дадена тъкан или организъм през неговия живот [Bron et al., 2017]. Установено е, че с възрастта отслабва функцията на слъзната жлеза [Tsubota et al., 2017].

Увреждане функцията на слъзната жлеза може да е вторично и да е свързано с проявата на различни заболявания като саркоидоза, лимфома, някои вирусни инфекции, пемфигоид, трахома или в резултат на радиационно облъчване или химическа травма [Bron et al., 2017].

Евапоративната форма на сухо око (ЕСО) се характеризира с повишена загуба на слъзна течност в следствие на прекомерното ѝ изпаряване от единица площ [Bron et al., 2017]. В резултат се наблюдава хиперосмоларитет, който лежи в основата на патогенетичната порочна каскада на увреждане на очната повърхност [Pflugfelder et al., 2017a]. От своя страна тази форма може да бъде асоциирана със самия клепач (вътрешни фактори) или с очната повърхност (външни фактори).

Основен от вътрешните фактори е развитието на мейбомиева дисфункция (MGD), която настъпва с нарастване на възрастта [Schaumberg et al., 2011], обструкция на жлезите, булозна епидермолиза [Bron et al., 2017, Bron et al., 1991] и др. Промени в клепачната цепка също могат до доведат до развитие на евапоротивно сухо око. Така например нощен лагофталм, който се характеризира с непълно затваряне на окото по време на сън,

може да е причина за сутрешно дразнене. Освен това непълно премигване е характерно и при здрави индивиди, в случай че погледът е насочен нагоре, особено при хора, чиято работа е свързана с концентриране на погледа на високо или под остър ъгъл [Bron et al., 2017]. Намалената честота на премигване също е съществен фактор за по-голямо изпаряване на слъзна течност от окото. Характерна е при болни от Паркинсон или прогресивна офталмоплегия [Bron et al., 2017]. При отсъствие на заболяване честотата на мигане намалява и при работа с видеодисплеи [Stapleton et al., 2017].

Ятрогенно обусловеното ЕСО се подразделя на предизвикано от системна или локална лекарствена терапия, носене на контактни лещи, рефрактивна, катарактална и клепачна хирургия и др. [Gomes et al., 2017].

Епидемиология

Сухото око е широко разпространено, добре познато глобално заболяване. Смята се, че по света има около 100 милиона засегнати от него хора. Характерни за заболяването са така наречените индиректни разходи (в следствие на намалена трудоспособност), които значително превишават директните разходи, свързани с неговото лечение [Yu et al. 2011]. Съществуващите популационни проучвания дават големи различия по отношение честотата на заболяването- между 5% и 34% [Sickenberger, 2017], между 5% и 50% [Stapleton et al., 2017]. Проучване в Индонезия обхващащо 1058 участници на възраст над 21 години показва, че 27,5% от изследваните са имали оплаквания и обективни данни за сухота [Lee et al., 2002]. В Япония процентът е 33% [Sickenberger, 2017]. При изследване на 2038 човека над 65 годишна възраст в Тайван 33,7% са имали субективни оплаквания [Lin et al., 2003]. От всички изследвани пациенти при 78,9% е установено намалено време за разкъсване на слъзния филм (TBUT), под 10s. Патологично отклонени стойности от Ширмер тест 1 (<5mm) са отчетени при 62,5%. Според проведено популационно проучване сред 75 000 души на възраст над 18 години в САЩ е установено, че честотата на разпространение на сухо око е 6,8% с тенденция да нараства след 45 годишна възраст [Farrand et al., 2017]. Едно от най-големите проучвания е Women's Health Study, включващо 39876 жени на възраст между 45-84 години. За период от четири години е установена честота на сухо око от 7,8% в изследваната група. Направените анализи показват, че представителите на жълтата раса имат по-висок риск от развитие на сухо око в сравнение с бялата, както и че възрастта е съществен фактор за изява на заболяването сред жените. Това изследване установява още, че жените,

използващи хормон-заместителна терапия с естрогени имат 69% по-голям риск от развитие на сухо око [Schaumberg et al., 2003]. При проучване в Салисбъри (The Salisbury Eye Evaluation) са участвали 2520 доброволци на възраст над 65 години. От проведената анкета при 14,6% е установена сухота. При обективните изследвания, проведени с Роз Бенгал и Ширмер тест, сухота е наблюдавана в приблизително 2% [Moss et al., 2004]. В Австралия е проведено проучване- The Melbourne Visual Impairment Project, в което са участвали 926 души над 40 годишна възраст [Fiona et al., 2015]. Пациентите са изследвани обективно чрез няколко теста за оценка на сухо око - тест на Джоунс, TBUT, Роз Бенгал и витално оцветяване с флуоресцеин. Тестът на Джоунс е бил патологичен в 16,3%, Роз-Бенгал в 10,8%, TBUT в 8,6% [Шандурков, 2011; Sickenberger et al., 2017]. Първото и най-мощно проучване в България за честотата на разпространение на сухо око е публикувано през 2007г. – „Синдром на сухо око – ятрогенно обусловен или болест на цивилизацията (клинично и епидемиологично проучване)“ [Шандурков & Василева, 2007]. Епидемиологичните данни са получени на базата на популационен скрининг на 5650 души на възраст над 18 години. Изследването обхваща извадка от градското население на град София. За целта на проучването е изработен специален въпросник за оценка на симптомите от страна на участниците. Данните сочат честота от 11%, като сред жените процентът е 14%, а сред мъжете 10%. Сред използващите компютър анкетираните (74%), е установена недостатъчност на слъзната секреция в 64%. Клиничната част от проучването обхваща 620 амбулаторни пациенти, които са прегледани и изследвани по отношение лакрималната продукция и съпътстващите рискови фактори. Получените данни показват, че 67,38 % от пациентите, посетили очен кабинет, независимо от повода, имат нарушение в слъзната секреция. Според изследването съществува значителна връзка между сухото око и други очни заболявания- глаукома - 85%, катаракта - 75%, заболявания на заден очен сегмент – 60% [Шандурков, 2010; Шандурков, 2011].

Физиология на слъзния филм

Особености и роля на слъзния филм

За първи път наличието на слъзен филм е установено през 1928г. от Фишър [Fischer, 1928]. Слъзният филм играе важна роля в хомеостазата на очната повърхност [Uchino & Tsubota, 2010] като:

- поддържа гладка рефракционна повърхност;
- смазва клепачите;
- снабдява роговицата с хранителни вещества като транспортира кислород и ограничен брой други вещества;
- осигурява бели кръвни клетки с достъп до роговицата и конюнктивата;
- отстранява чужда материя от корнеата и конюнктивата;
- предпазва очната повърхност от патогени чрез специфични и неспецифични вещества;
- предпазва очната повърхност от действието на свободни радикали.

Сълзата е първата гранична повърхност (въздух-вода) на пътя на светлинните лъчи и осигурява значителна пречупвателна сила в общата рефракция на зрителния анализатор. Нарушенията в слъзната секреция и интегритета на филма водят до влошаване и флукуация на зрителната функция, загуба на контраст и дискомфорт. Обемът на слъзния филм, разстилащ се по очната повърхност, е в порядъка 4-13 μl . Всяка минута се произвеждат по 1.2 μl нова сълза, която е необходима за осигуряване на динамичния процес на обмен. При здрави хора нормалният обмен на слъзния филм става със скорост от около 16 % - 20 % за минута. Средната му дебелина, измерена интерферометрично, е $6 \mu\text{m} \pm 2,4 \mu\text{m}$ [Foster & Lee, 2013]. Слъзният филм се характеризира също с рН 7,3 – 7,7 [Uchino & Tsubota, 2012].

Слъзният филм съдържа електролити, глюкоза, растежни фактори, невропептиди, протеазни инхибитори- жизнено необходими вещества за поддържане виталността и регенеративните способности на роговичния епител [Foster & Lee, 2013].

От всички мукозни лигавици в човешкото тяло, очната повърхност единствено е подложена на непрекъснат непосредствен контакт с околната среда. Ето защо ролята на слъзния филм е да служи за защита от различни алергени, иританти, екстремно високи или ниски температури, различни патогени и микроорганизми. Очната повърхност разполага с няколко защитни механизма за предпазване на окото - анатомичен,

механичен, антиминоробен и имунологичен. Интактния конюнктивален епител осигурява механична бариера, възпрепятстваща преминаването на различни патогени. Хистологичното устройство на епитела е свързано с наличието на комплекс плътни контакти (*tight junctions*). Този комплекс огражда апикалната повърхност на епитела и е основната преграда за пасивно движение на течности, електролити, макромолекули и клетки през парацелуларния път. Съдържа основно интегралните трансмембранни протеини оклудин и клаудини, както и някои мембранно асоциирани белтъци като ZO-1, ZO-2 и ZO-3 [Van et al., 2003].

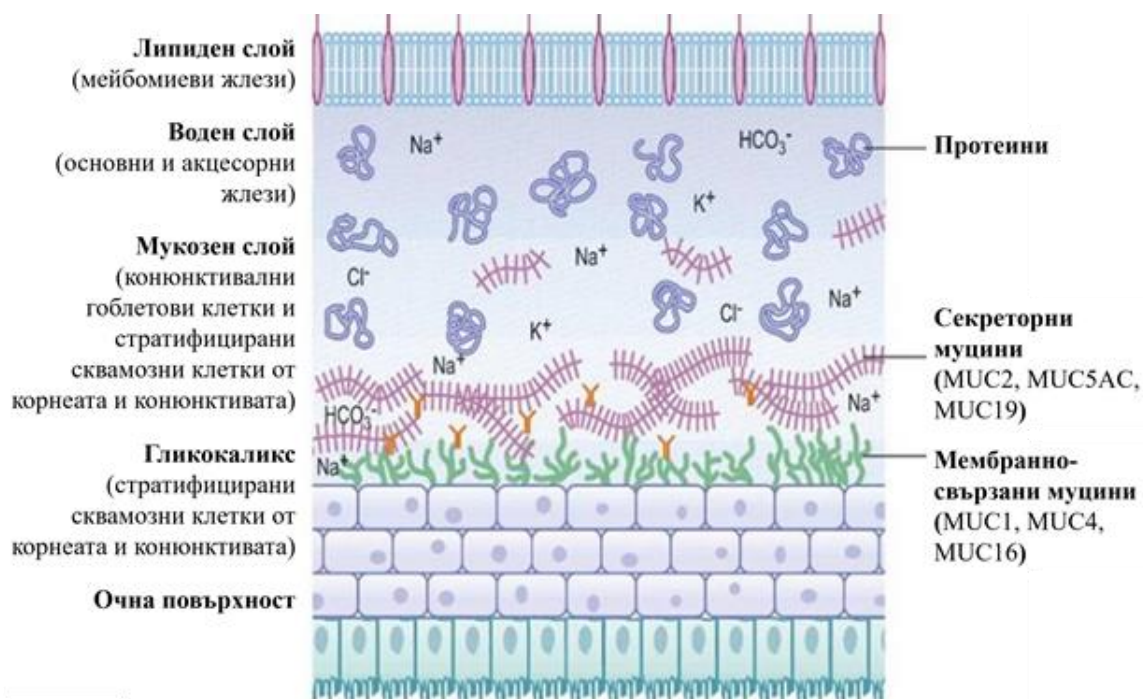
Мигателният рефлекс механично премахва различни патогени и чужди тела от очната повърхност. Нормално при мигане горният клепач се придвижва към долния като първоначално контакт се осъществява в темпоралната им част. След това плътното затваряне се разпространява по клепачния ръб. По този начин слъзният филм се компресира в мениска и излишъкът от сълзи или наличните частици се насочват назално към слъзната пункта [Pult et al., 2013]. Рефлекторното сълъзене допълнително благоприятства защитата на очната повърхност. Могат да се разглеждат различни видове рефлекторно сълъзене, но най-добре проучени са т.нар. „раздразнени сълзи“, които се дължат на увреждане на очната повърхност от чуждо тяло (пясък, мигли и др.), рана (абразия, стромално увреждане) и възпаление (инфекция, алергия). Такива фактори предизвикват дразнене или дискомфорт и стимулират сетивните окончания на *n. Trigemini*, в резултат на което се наблюдава рефлекторна хиперсекреция на слъзните жлези. Прекомерното количество сълзи не може да бъде отстранено по лакрималните пътища и прелива от конюнктивалния басейн, при което отмива чуждите тела или секретирани дразнителни [Murube, 2009].

Очната повърхност е мукозна и респективно се характеризира с мукозен имуноен защитен механизъм, осъществяван от т.нар. очно-асоциирана лимфоидна тъкан (EALT) [Кноп & Кноп, 2007]. В конюнктивата се намират специализирани ендотелни клетки, свързващи отделни части на локална имунната система- лимфоидни клетки, лимфоците, IgA позитивни плазматични клетки, Т- клетки, В- клетки, лимфни фоликули. Всички те формират конюнктивно-асоциирана лимфна тъкан (CALT) [Harvey et al., 2013].

Вроденият имуноен отговор е неспецифичен и представлява първото ниво на реакция спрямо различни патогени като се активира в рамките на минути. Осъществява се благодарение на действието на различни клетки, включително епителни клетки, фибробласти и Лангерхансови клетки. Епителните клетки и фибробластите са отговорни за секрецията на проинфламаторни цитокини като TNF- α , IL-1, IL-6 и IL-8,

докато Лнгерхансовите клетки участват във включването на В- и Т-клетъчния имуен отговор. Основни молекули, асоциирани с вродения имунитет, са т.нар. *Toll-like* рецептори (TLR) [Volaños-Jimenez et al., 2015]. Това са тип 1 трансмембранны гликопротеини, експресирани по множество клетки- епител, ендотел, антиген-представящи клетки и лимфоцити. Към момента са идентифицирани 10 TLR като техните лиганди и сигнални пътища са проучени. Основната им роля е да разпознават и свързват патогенно-асоциирани молекулни последователности (PAMP- pathogen-associated molecular patterns), в резултат на което по различни пътища стимулират експресията на NF-κB и секрецията на цитокини, хемокини и др. [Redfern & McDermott, 2010]. Освен тези рецептори вроденият имуен отговор осъществява своето действие посредством лактоферин, лизозим, дефензими, система на комплемента и др. Основните ефекторни клетки са неутрофили, макрофаги и NK-клетки [Nissen & Rörke, 2005].

Придобитият имуен отговор е силно специфичен, антиген-специфичен и с отложено максимално действие. Осъществява се посредством клетъчна и хуморална реакция. За клетъчния отговор способстват основно Т-лимфоцитите и цитотоксичните Т-хелпери, разположени в конюнктивалния епител и *substantia propria*. Основният клас антитела, осигуряващи хуморалния имуен отговор, са IgA, и по-специално секреторният sIgA, който се намира по повърхността на конюнктивата. Това антитяло предпазва очната мукоза от бактериалните клетки и вируси, свързвайки се с техните специфични антигенни рецептори [Nissen & Rörke, 2005; Кноп & Кноп, 2007].



Фиг. 3 Структура на слъзния филм, основни компоненти и секреторни структури.

Според общоприетите представи, предложени за първи път от Wolff [Wolff, 1946], слъзният филм се състои от три основни слоя- повърхностен липиден, воден и мукозен (фиг. 3). За най-значителен по обем сред тях се смята средният воден слой [Wilshire et al., 2018].

Мукозен слой

Мукозната част на слъзния филм осъществява връзката на водната фаза с гликокаликсната система на очната повърхност. Този слой е изграден от секреторни и мембранно-свързани муцини. Това са високомолекулни гликопротеини, характеризиращи се със значително О-гликозилиране. Основните мембранно-свързани муцини са MUC1, MUC4 и MUC16, а сред секреторните преобладават MUC2, MUC5AC и MUC19. Муцините се произвеждат от гоблетовите клетки и корнеалния епител и могат да се стимулират от проинфламаторни цитокини (IL-1 β , IL-6, TNF α). Мукозният слой осигурява надеждна защита на корнеалния епител от механичното въздействие на клепачите по време на мигане, както и предпазва от патогени и изсушаване [Uchino & Tsubota, 2012; Harvey et al., 2013]. Благодарение на намиращите се в него трансмембранни муцини се понижава повърхностното напрежение и слойт се характеризира с ненютоново поведение. Това прави очната повърхност хидрофилна и позволява на водния слой да се разстеле равномерно върху нея.

Муцините се подразделят според това дали са секретирани или са повърхностно-асоциирани. Секретираните муцини биват разтворими и гел формиращи. Повърхностно-асоциираните муцини (мембранно-асоциирани) формират гликокаликса, чрез който се осъществява връзката между слъзния филм и микровилите на повърхностния епител. Мембранно-асоциираните муцини действат синергично с гел формиращите, като предпазват епитела от изсъхване. MUC1 и MUC16 осъществяват също бариерна функция по отношение на патогени като предотвратяват клетъчната адхезия [Gipson et al., 2014]. Макар и не напълно ролята на муцините е добре проучена. Известно е, че занижената експресия на гена, отговорен за синтеза гел-формирация муцин MUC5AC, е в основата за развитие на сухо око при синдром на Съогрен. При неасоциирана със синдром на Съогрен сухота е установено намалено гликозилиране на мембранно-асоциирания MUC16 [Harvey et al., 2013].

Воден слой

Водният слой се продуцира от основните и акцесорните слъзни жлези (на Краузе и Волфринг) под въздействието на различни стимули (хормонални, симпатикови и парасимпатикови). Съдържа предимно неорганични соли, глюкоза, урея, ензими, белтъци и гликопротеини. От протеините в най-голямо количество се съдържат слъзен липокалин и лизозим [Cwiklik, 2016]. По своя електролитен състав водният слой е сходен със серума, с приблизителен осмоларитет от 300 mOsm/l. Осмоларитетът представлява броя осмоли разтворени вещества в единица обем от разтвора. Нормалният осмоларитет е от основно значение за поддържане на обема, ензимната активност и хомеостазата на клетките по очната повърхност [Wilshire et al., 2018]. Основната функция на този слой е свързана с доставката на кислород до корнеалния епител, отмиване на частици и дразнещи вещества, както и антимикуробна функция поради съдържащите се суб-лизозим и бетализин [Uchino & Tsubota, 2012].

Анатомичният субстрат, осигуряващ секрецията на водната фаза, е слъзната и няколко вида добавъчни жлези. Основната слъзна жлеза е разположена в горно-темпоралната част на орбитата (*fossa lacrimalis*), където латералната част на апоневрозата на мускул *levator palpebrae superior* я разделя на две части- орбитална и палпебрална. По своя хистологичен строеж слъзната жлеза е тубулоацинозна, съставена от множество лобули, които са сепарирани от съединителни септи. Всеки лобул е изграден от голям брой ацини, чиито епителни клетки продуцират водната част на слъзния филм. Лобулитите от орбиталната част на жлезата се свързват помежду си посредством интерлобуларни дуктуси, формирайки заедно няколко екскреторни дуктуса, които с дуктусите от палпебралната част на жлезата, отделят слъзния секрет в горно-темпоралната част на форниксовата конюнктива.

Акцесорните жлези са разположени на различни локуси по конюнктивата и тарза. Жлезите на Краузе се намират дълбоко в областта на горния и долния конюнктивален форникс, където техният брой съответно е около 42 за горния и между 6-8 за долния. Заедно отделните жлези формират сложно устроена дуктална система, която се отваря във форниксовата част на конюнктивата и секретът се излива по повърхността на окото. Жлезите на Волфринг са разположени в палпебралната част на конюнктивата в областта над горния край на тарза. Заедно двата вида акцесорни жлези осигуряват продукцията на водната част на слъзния филм, обезпечавайки базалната секреция, необходима за поддържане нормалната хомеостаза на очната повърхност.

Регулацията на слъзната секреция се осъществява от нервната система. Всяка една от частите, изграждащи очната повърхност и жлезите, отговорни за продукцията на компонентите на слъзата, са свързани помежду си инервационно. Сензорни аферентни влакна от роговицата и конюнктивата подават сигнали до сензорни неврони в мозъчния ствол, откъдето автономни и моторни еферентни нервни влакна въздействат както върху функцията на жлезите, секретирани компонентите на слъзния филм, така и върху функцията на *musculus orbicularis oculi*, който осъществява мигателните движения.

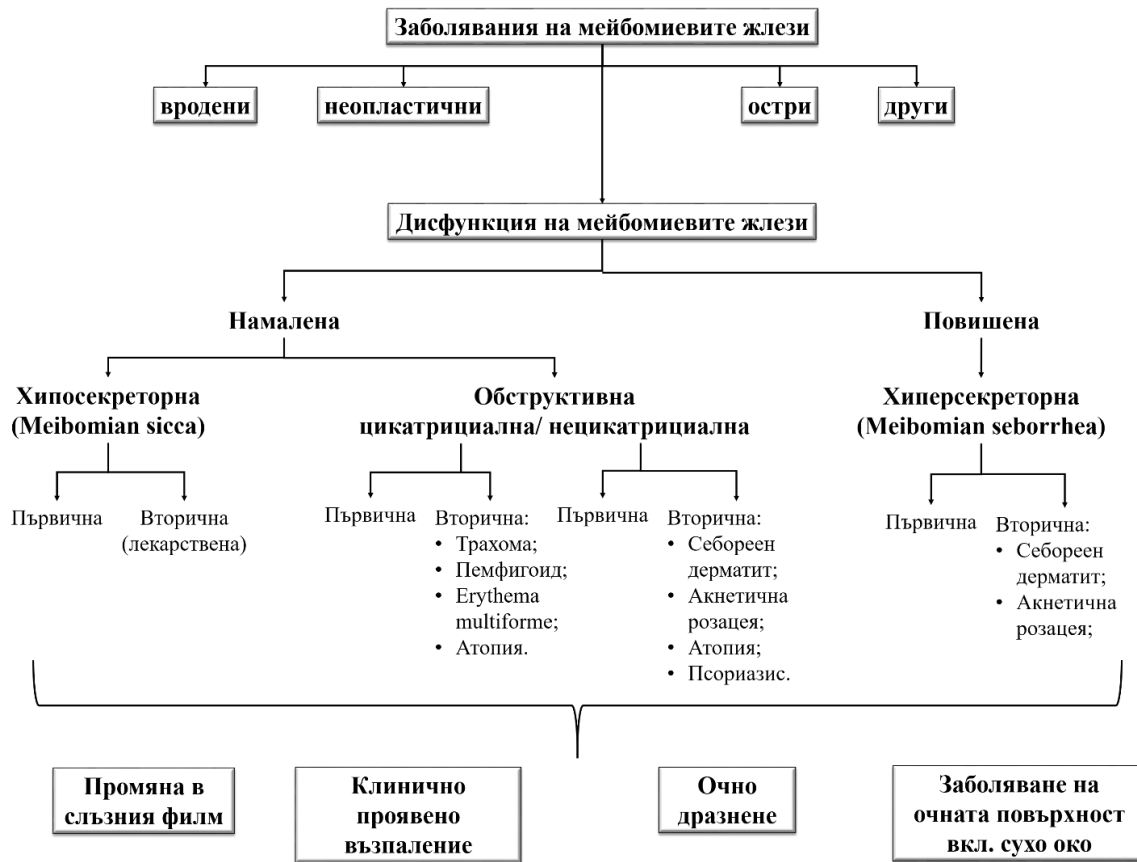
Липиден слой

Повърхностният слой (0,015 – 0,16 μm) е изграден от хетерогенна смес от липиди. Ниското повърхностно напрежение на липидния слой способства за равномерното разстилане на слъзата и оптичната гладкост на очната повърхност. Участва също в забавяне изпаряването на водната фаза [Cwiklik, 2016]. Липидите се синтезират основно от Мейбомиеви жлези, жлези на Цайс и Мол. Граничната зона между липидния и водния слой е съставена от полярни липидни молекули- церамиди, цереброзиди и фосфолипиди. На граничната повърхност с въздуха са разположени неполярни молекули-холестеролови естери, триглицериди и свободни мастни киселини [Foster & Lee, 2013].

Мейбомиеви жлези

Мейбомиевите жлези са част от прилежащите органи на окото и са описани за първи път през 1666г. от немския лекар и анатом Хаинрих Мейбом [Meibom, 1666]. Това са модифицирани холокринни жлези, които се разполагат по тарза, перпендикулярно на мигления ръб, на горния и долния клепач при човека и животните [Jeyalatha et al., 2017]. Обикновено броят им варира между 20 и 40 за горния клепач и 20 и 30 за долния. Всяка мейбомиева жлеза се характеризира със значителен брой ацини, които се свързват в централен дуктус, отварящ се на мигления ръб. Тази структура се описва като гроздовидна форма [Butovich, 2017]. Функцията на мейбомиевите жлези е да секретират основната част от липидните компоненти (мейбум) на слъзния филм, благодарение на които се възпрепятства изпаряването на подлежащата водна фаза като се осигурява по-малко повърхностно напрежение и по-голяма стабилност на слъзния филм [Arita et al., 2017; Кноп et al. 2011]. Мейбумът съдържа предимно неутрални липиди като восъчни естери, холестеринови естери, свободен холестерол и триацилглицероли. В по-малка степен се секретират и полярни вещества като свободни мастни киселини, фосфолипиди, сфингомиелини, церамиди и др. [Butovich et al., 2017]. Тези липиди сформират външния

последен слой на слъзния филм и смазват очната повърхност при мигане и предпазват от изпаряване на сълзата [Baudouin et al., 2016].



Фиг.4 Класификация на заболяванията на мейбомиевите жлези и свързаните с тях прояви.

Множество патологични състояния могат да увредят функцията на мейбомиевите жлези, включващи както вродени така и придобити състояния (фиг. 4). Резултатът от увредената функция може да се изразява в хипосекреция (намалена секреторна активност или обструкция на жлезите) или хиперсекреция. Патологично намаляване на секретията, каквото се наблюдава при мейбомиева дисфункция, води до влошаване стабилността на слъзния филм и развитие на евапоративна форма на сухо око [Chhadva et al. 2017]. Мейбомиевата дисфункция се среща в 45,8% при пациентите, диагностицирани със сухо око [Viso et al., 2011]. Промяна в мейбомиевите жлези се явява входната точка за т.нар. „порочен кръг“ в патогенезата на сухо око. Четири последователни събития изграждат мейбомиевата примка – стаза на мейбум, бактериална пролиферация, освоождаване на липази и естерази и повишаване температурата на топене на мейбума и неговия вискозитет [Baudouin et al., 2016]. Освен това халтавост на двата клепача може да доведе до влошен дренаж на мейбум поради понижения мускулен тонус, който се упражнява върху каналите на мейбомиевите жлези

[Geerling et al., 2011; Chang et al., 2014]. Основно значение за развитие на мейбомиева дисфункция има по-скоро качеството, а не количеството на мейбума. Това се асоциира с обструкция на дуктусите и последващата атрофична дегенерация, в резултат на което запазените жлези секретират по-голямо количество мейбум, но с намален липиден състав сравнено със здрави контроли [Komuro et al. 2002]. Установено е, че съществува корелационна зависимост между загубата на мейбомиеви жлези от една страна и дебелината на липидния слой и неговата стабилност от друга [Foulks et al. 2003; Pult et al., 2012]. Загубата на мейбомиеви жлези на долен клепач е по-изразена и прогресира по-рано. Това е свързано с факта, че горният клепач извършва по-изразени мигателни движения в сравнение с долния. Така жлезите на горния клепач се експресират чрез механичното мускулно движение, осъществявано от претарзалните орбикуларни мускулни влакна и маргиналните мускули на Риолан [Eom et al. 2014].

Етиология и патогенеза на сухо око

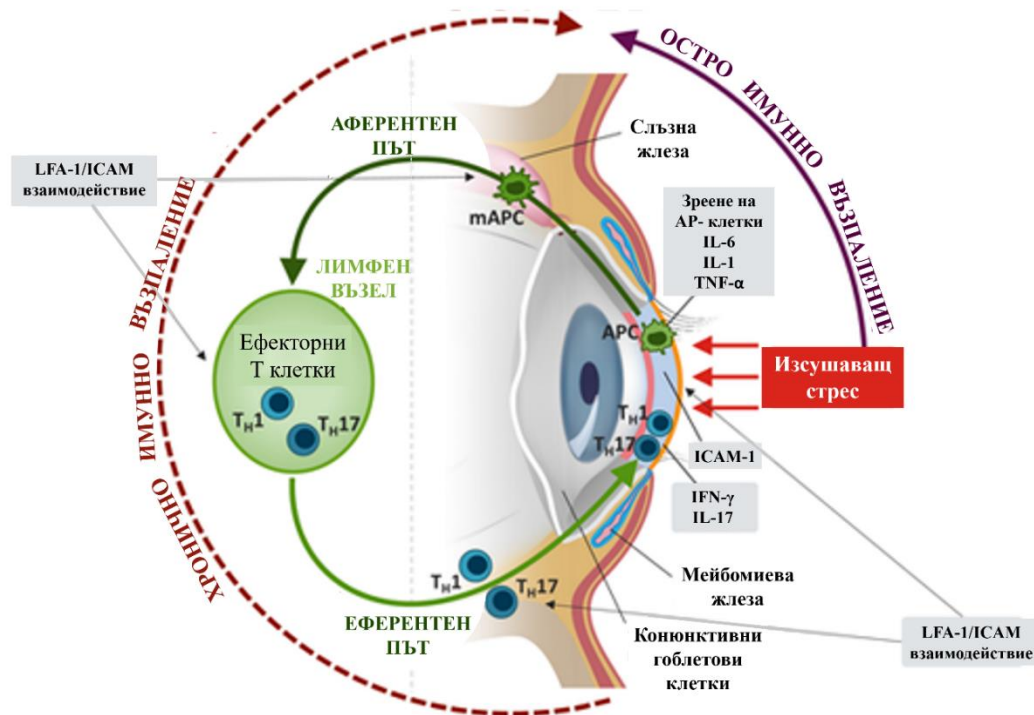
Съществуват различни теории, обясняващи механизма на възникване на сухо око. Според преобладаващите схващания нестабилност на слъзния филм, хиперосмоларитет, апоптоза и възпаление лежат в основата на развитие на заболяването. Независимо от първопричината при сухо око винаги се достига до т.нар. „порочен кръг“ (фиг.5), който води до развитие и влошаване състоянието на очната повърхност [Bron et al., 2017].



Фиг. 5 Порочен кръг в патогенезата на сухо око [Vaudouin et al., 2013].

Слъзната нестабилност показва бързото разкъсване на слъзния филм след едно мигателно движение и е в следствие на понижена слъзна секреция, забавен клирънс или променен слъзен състав. В резултат се наблюдава локално изсушаване и хиперосмоларитет, увреждане на епителните клетки, гликокаликса и муцините, продуцирани от гоблетовите клетки. Хиперосмоларитетът лежи в основата на патогенетичния механизъм [Baudouin et al., 2013] и отразява състояние, при което осмоларитета на сълзите превишава този на епителните клетки, при което намалява обемът им и се повишава концентрацията на разтворени вещества. Това води до клетъчна смърт и каскада от възпалителни процеси с последваща загуба на муцин-продуциращи гоблетови клетки. В резултат допълнително се влошава стабилността на слъзния филм и се затваря порочният кръг [Baudouin et al., 2013]. Следователно сухото око може да се разглежда като автономно самоподдържащо се състояние, което прогресивно не зависи от първоначалните причини за развитие [Baudouin et al., 2016]. Дисфункцията на мейбомиевите жлези може да се явява *entry*-механизъм за започване на порочния кръг на сухо око. Въпреки че при мейбомиевата дисфункция се наблюдава възпаление на жлезите, промяната в тяхната морфология и функция е това, което свързва двете заболявания. В резултат на увреждането им се наблюдава стаза на мейбума, бактериална пролиферация, освобождаване на липази и естерази и повишаване температурата на топене на мейбума. Липсата на нормален мейбомиев секрет намалява съдържанието на липиди в слъзния филм и отключва порочния кръг на сухо око. Познаването на ключовите места в тези два взаимодопълващи се кръга (ССО и MGD) могат да предоставят възможност за адекватна терапия на сухо око [Baudouin et al., 2016]. Така например включването на тетрациклини или други орални антибиотици може да повлияе върху бактериалната пролиферация (*Staphylococcus* spp., *Propionibacterium acnes*, *Bacillus oleronius*, *Demodex*).

Възпалителната компонента в патогенезата на сухо око включва както клетки, така и медиатори на възпалението [Wei & Asbell, 2014]. В резултат от въздействие на факторите на околната среда се задейства аферентният имунен път (фиг. 6). Предизвиканият имунен отговор води до секреция на проинфламаторни цитокини. Те стимулират съзряването на антиген представящи клетки (APC) и миграцията им в шийните лимфни възли. Там Т-клетки се диференцират в Th-1 и Th-17, които еферентно мигрират до очната повърхност и слъзната жлеза, където допълнително стимулират освобождаване на проинфламаторни цитокини.



Фиг.6 Схема на имунологичния механизъм в патогенезата на сухо око [Pflugfelder et al., 2017; Perez et al., 2016; Stern et al. 2010]

LFA-1 представлява левкоцитен трансмембранен интегрин, който може да се свързва с екстрацелуларни лиганди като ICAM-I и да предава сигнали към вътрешността на клетката. Системата LFA-1/ICAM-I лежи в основата и на двата пътя на имунния отговор. На базата на това взаимодействие е разработено специфично ЛВ: Lifitegrast. Той представлява ICAM-I антагонист, регистриран и одобрен от FDA през 2016 и е единственият към момента патогенетичен медикамент за терапия.

Рискови фактори

Повишената продължителност на живота е основен рисков фактор за развитие на хронични заболявания сред населението на развитите страни. Според прогнозен доклад на ООН към 2050г. хората в гериатрична възраст по света ще удвоят настоящия си брой и ще достигнат 2.1 милиарда души. Възрастта е доказано основен рисков фактор за развитие на сухо око [Ding&Sullivan, 2012; Rico-del-Viejo et al., 2018]. Друг основен рисков фактор е женският пол. Установено е, че при жените сухо око се среща два пъти повече в сравнение с мъжете [Farrand et al. 2017] като пиковата честота е след 40-тата декада [Guillon & Maissa 2010; Schaumberg et al. 2003]. В основата на това полово различие са половите хормони, които влияят както върху слъзната, така и върху

мейбомиевите жлези. Андрогенови и естрогенови рецептори са разположени в клетките на мейбомиевите жлези, а мейбоцитите съдържат още и ензими необходими за интеркритинния синтез на полови стероиди от прекурсори на надбъбрека [Chhadva et al. 2017]. Тестостеронът регулира надолу експресията на гените, свързани с кератинизация на мейбомиевите жлези [Knop et al. 2011; Sullivan et al., 2017]. Различните плазмени нива на андрогенни хормони при мъжете и жените може би са причината за по-високата честота на разпространение на сухо око сред жените. При жени под 30г. плазмените нива на андрогените са около 2/3 от тези при мъжете. Установено е, че тези хормони влияят съществено на функцията на мейбомиевите жлези. Това се обуславя от модулиращото им действие върху експресията на редица гени и по-специално на тези, асоциирани с активирането на липидни метаболитни пътища, засягащи синтеза, транспорта и секрецията на липиди. Допълнително андрогените потискат гените, свързани с кератинизацията на мейбомиевите жлези. Съществуват редица данни, които сочат за влиянието им също и върху слъзната жлеза като променят нейната секреторна функция [Truong et al., 2014].

От своя страна естрогените и прогестеронът също повлияват състоянието на мейбомиевите жлези. Естрогените антагонизират действието на андрогените в мейбомиевите жлези чрез регулиране на наличието на свързващи места за противоположния хормон. С други думи не самите женски полови хормони имат негативно влияние върху себацейните жлези, а по-скоро възпрепятстват положителното въздействие на андрогените. Освен това се освобождават лизозомални ензими, които предизвикват преждевременна клетъчна деструкция и намалено отделяне на секрет [Knop et al., 2011]. В крайна сметка комбинираното им действие се изразява в потискане на липидния синтез и развитие на мейбомиева дисфункция. Това антагонистично въздействие е правдоподобно обяснение на факта, че при жени в менопауза, въпреки по-ниските нива на естрогени, честотата на сухо око се запазва висока [Truong et al., 2014]. По отношение на слъзната жлеза се счита, че естрогените и прогестагените участват в развитие на възпаление и автоимунно заболяване. Съществуват данни, че половите хормони играят роля в регулацията на роговичната анатомия и физиология, въпреки че конкретните ефекти върху корнеята при сухо око все още не са изяснени. Въпреки установеното влияние на половите хормони върху състоянието на очната повърхност, данните по отношение на използването им в терапията на сухо око са противоречиви [Willcox et al., 2017].

Друг основен рисков фактор за проява на сухо око е носенето на контактни лещи [Tsubota et al. 2017], особено на такива с по-високо водно съдържание и по-ниски нива на кислородна пропускливост [Групчева, 2009]. Проучванията, изследващи сухотата при пациентите, носещи контактна корекция, също сочат доста големи различия в честотата на проява на заболяването [Stapleton et al., 2017]. Според проучване в Германия 15,3% от носещите контактни лещи страдат от сухота [Moss et al. 2004]. При сравнение на резултатите сред пациенти с контактна корекция в САЩ и Канада резултатите са съответно 80% и 51% [Caffery et al. 1998]. Тези доста големи различия биха могли да бъдат обяснени с различните критерии за изследване и подбор на пациентите, както и на методите за изследване на сухо око. В Северна Америка изписването на контактна корекция се извършва предимно от оптометристи, поради което отчитането на мултифакторната етиология и коморбидитет остава недооценена [Sickenberger et al., 2017].

Факторите на околната среда и микроклимата също повлияват състоянието на очната повърхност. Според някои проучвания дори може да се отдиференцира форма на сухо око, свързана с околната среда [Alves et al., 2014]. Замърсяването на въздуха с прахови частици се асоциира с промяна в мигателната честота, увреждане на роговичния епител и понижена стабилност на слъзния филм. Стабилността на слъзния филм се повлиява също съществено от UV лъчи [Alves et al., 2014]. Като цяло състоянието на очната повърхност се влияе неблагоприятно от ниска относителна влажност ($RH < 20\%$) и високи температури ($t^0 > 30^0C$) [Gonzalez-Garcia et al., 2007; Abusharha & Pearce, 2012]. Интензивното използване на видодисплеи (над 4 часа дневно) в днешно време се асоциира със симптоми на сухота, особено при по-млади индивиди. При окло 27,4% от работещите с видеодисплеи се установяват повишени нива на осмоларитета, както и намаляване на височината на слъзния мениск [Willcox et al., 2017]. При тези индивиди благоприятно въздействие оказват честите почивки, активното съзнателно мигане и наличието на устройства, които охлаждат и увлажняват въздуха.

Използването на различни медикаменти също може да окаже негативно влияние върху състоянието на очната повърхност. Системните вещества, които се асоциират във висока степен с развитие на сухо око са предимно от групите на антидепресанти, антипсихотици, анксиолитици, антихипертензивни и някои хормони при жени над 50г. [Gomes et al., 2017; Feng et al., 2016]. В основата си това са антихолинергични вещества, които влияят на G-свързания мускаринов рецептор в слъзната жлеза и конюнктивалните мукус-продуциращи клетки. За други вещества като амиодарон, ацетилсалицилова

киселина, ибупрофен, клофазамин и др. е доказано, че се секретират в сълзите и системното им приложение може да доведе до влошаване на симптомите на сухота чрез механично дразнене или повишен осмоларитет [Gomes et al., 2017].

При медикаментите, прилагани локално поради факта, че лекарствените форми са сложни смеси от активни и помощни компоненти, липсва специфична информация относно приноса на самите лекарствени вещества [Gomes et al., 2017]. Терапевтичните класове лекарства и примери за техни представители, които най-често се асоциират с проява на сухо око са представени в табл. 1. Влиянието на антиглаукомните медикаменти е разгледано в частта, свързана с терапия на глаукома (глава 2, секция 3).

Табл. 1 Локални лекарствени вещества, за които се счита, че предизвикват или утежняват симптомите на сухо око. (НСПВС- Нестероидни противовъзпалителни средства) [Gomes et al., 2017].

Терапевтичен клас	Примери
Антиглаукомни медикаменти	
• Бета-блокери	Betaxolol, Levobunolol, Timolol, Metipranol
• Адренергични агонисти	Apraclonidine, Brimonidine, Dipivefrin
• Карбоанхидразни инхибитори	Brinzolamide, Dorzolamide
• Холинергични агенти	Pilocarpine, Ecothiopate
• Простагландинови аналози	Bimatoprost, Latanoprost, Travoprost
Противоалергични медикаменти	Emedastine, Olopatadine
Противовирусни медикаменти	Aciclovir, Trifluridine
Деконгестанти	Naphazoline, Tetryzoline
Мидриатици	Cyclopentolate, Tropicamide
Локални анестетици	Proxymetacaine, Tetracaine
Локални НСПВС	Bromfenac, Diclofenac, Ketorolac

Терапия на сухо око

Сред основните медикаменти, използвани за локално лечение на сухо око, са т.нар. изкуствени сълзи. Те се считат за средство на първи избор. Съществуват множество търговско достъпни продукти (вж. приложение 1). Механизмът на действие на тези колири е свързан с увеличаване на обема на слъзния филм, предпазване от изсушаване, задържане на сълзите върху очната повърхност, поддържане на физиологична дебелина на роговицата, подобряване плътността на гоблетовите клетки и облекчаване на симптомите на сухота [Foulks et al. 2013; Jones et al., 2017]. С цел да се увеличи контакното време много често те съдържат хидрогелове. Това са полимери, които при

контакт с водата набъбват, задържат влага в себе си и се характеризират с повишен вискозитет. Много от тях се характеризират и с мукоадхезивни свойства. Най-широко приложение сред хидрогеловеите намират целулозни деривати (хидроксипропил целулоза, хидроксипропилметил целулоза, карбоксиметил целулоза), полиакрилат, поливинил пиридон, полиетилен гликол, поливинил алкохол, декстран, хиалуронова киселина и др. (вж. приложение 1).

Осмопротектори (L-карнитин и бетаин) също намират приложение при лечение на сухо око [Jones et al., 2017]. Това са вещества, които предпазват клетките от екстремно високи стойности на осмотичното налягане чрез балансиране на вътреклетъчното налягане без да променят клетъчния метаболизъм.

Трехалозата е природен дизахарид, който позволява на клетките да преживяват в неблагоприятни условия на средата. Притежава много голяма способност да задържа вода и затова се счита едновременно за биопротектор и осмопротектор [Jones et al., 2017]. Локалните кортикостероиди също намират приложение при лечението на това състояние чрез контрол на възпалителната компонента. Счита се, че механизмът им на действие се асоциира с индукцията на липокортини- протеини, които потискат действието на фосфолипаза А2 [Macsaі & Moјіса, 2012]. Прилагат се най-често ударно за не повече от четири седмици с цел да се намалят нежеланите лекарствени реакции [Pflugfelder & Nettune 2013].

Циклоспорин А представлява пептид, изолиран от фунги, който възпрепятства активацията и ядрената транслокация на транскрипционни фактори, необходими за продукцията на инфламаторни цитокини и активация на Т-клетки [Macsaі & Moјіса, 2012]. Циклоспоринът намалява хиперосмоларитета на слъзния филм и има анти-апоптични ефекти [Jones et al., 2017]. Терапията с циклоспорин А е одобрена на територията на Европейския съюз. Регистриран за употреба продукт от Европейската агенция по лекарствата е IKERVIS® (ciclosporin 1mg/ml веднъж дневно), който представлява катионна емулсия в едnodозни опаковки.

Счита се, че различни липиди имитират в различна степен естествения мейбум като основни сред тях са фосолипиди, наситени и ненаситен мастни киселини, триглицериди [Jones et al., 2017]. Затова съществуват и лекарствени продукти, които съдържат подобни компоненти, макар и да не позволяват напълно ефективно заместване на естествения слъзен състав.

Тетрациклините са широкоспектърни антибиотици, които възпрепятстват протеиновия синтез в микроорганизмите и потискат продукцията на липаза, в резултат на което

намаляват разграждането на мейбомиевите липиди [Jones et al., 2017]. По този начин увеличават стабилността на слъзния филм и подобряват клиничните параметри при наличие на мейбомиева дисфункция или блефарит [Pflugfelder & Nettune 2013]. Тези лекарствени вещества притежават противовъзпалителен ефект, тъй като намаляват продукцията на инфламаторни медиатори като IL1 и TNF- α [Jones et al., 2017].

Автоложен серум представлява течната компонента на кръвта, която остава след съсирването ѝ, и се прилага на същия индивид, от който е изолиран. Предимството му е свързано със значителното сходство на биохимичните му характеристики (рН, нервни растежни фактори, витамини, фибронектин и др.) с тези на слъзите. Освен това е установено, че потиска освобождаването на инфламаторни цитокини и увеличава броя на гоблетовите клетки. Въпреки това, обаче, приложението му се ограничава от сложното приготвяне и съхранение, както и разлика в състава в зависимост от начина на приготвянето му [Jones et al., 2017].

Муколитиците представляват група вещества, които деполимеризират муцина и се счита, че облекчават състоянието на очната повърхност при сухо око. Локалното приложение на ацетилцистеин, който принадлежи към тази група, подобрява състоянието и благодарение на антиоксидантните му свойства [Jones et al., 2017].

Секретолитиците като Diquafosol tetrasodium (Diquas[®], Santen, Osaka, Japan) представляват пуринергични рецепторни агонисти, които стимулират водната и муциновата секреция от конюнктивалните епителни и гоблетови клетки. Друг представител на тази група е Rebamipide (Mucosta[®], Otsuka pharmaceutical, Japan). Той стимулира продукцията на муциноподобни гликопротеини и увеличава експресията на MUC1, MUC4 и MUC16.

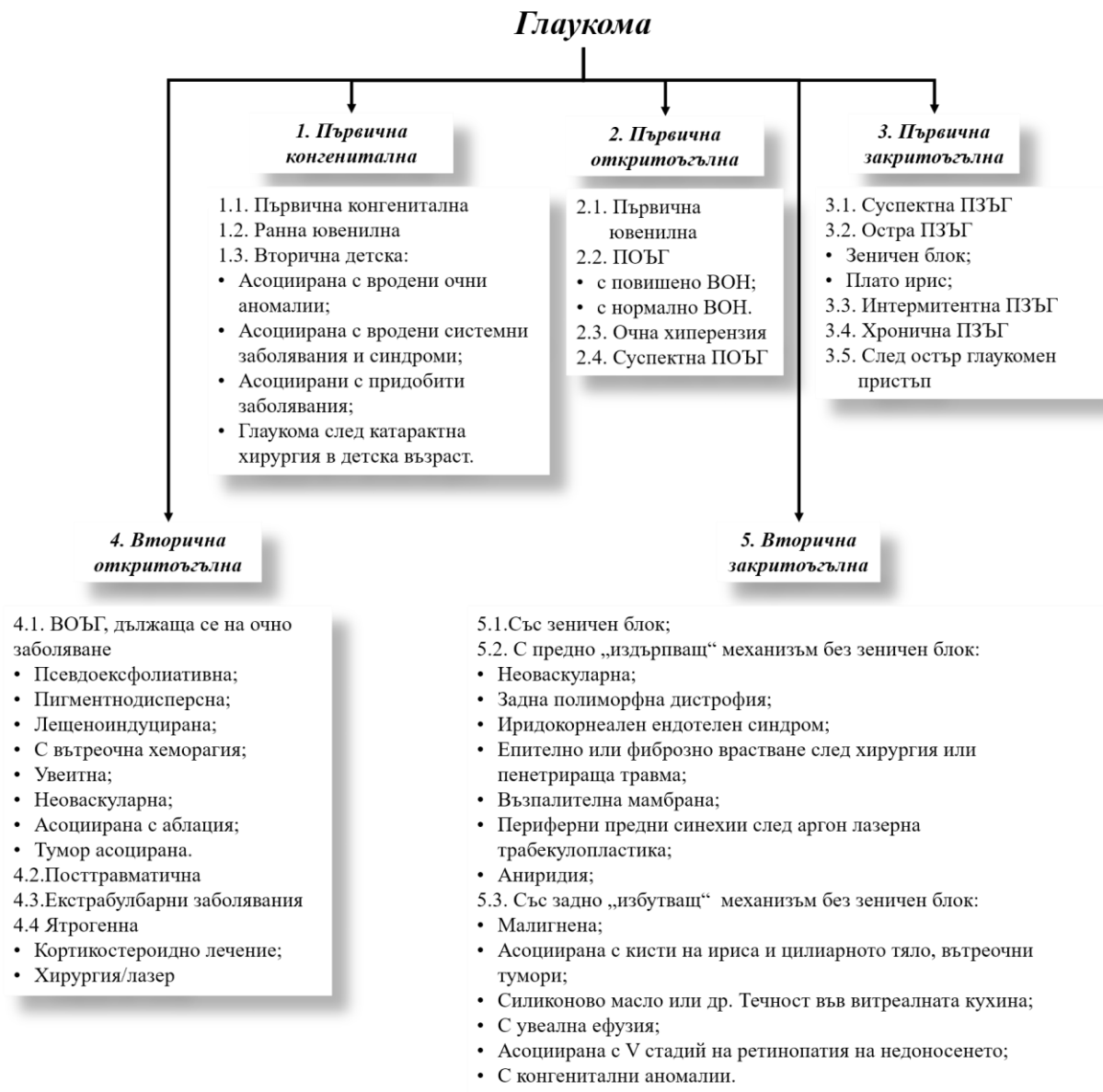
Форми на сухо око, свързани с изразен воден дефицит, могат да бъдат третирани чрез временна или перманентна оклузия на пунктите [Pflugfelder & Nettune, 2013]. Съществуват различни видове медицински изделия за осъществяване на оклузията, наречени най-общо „тапи“. Поставят се най-често с помощта на специални устройства или пинсет. Най-основно се разделят на резурбируеми и нерезурбируеми, като първите обикновено се използват за оценка на толерантността и ефикасността на този метод на лечение [Jones et al., 2017]. В някои случаи при „изхвърляне“ на тапите или каналикуларна миграция е възможно да се прибегне и до хирургична оклузия на пунктите- термична каутеризация, оклузия с конюнктивално ламбо или зашиване на тапичката в каналикула.

Все по-нарастваща е информацията по отношение на влиянието на диетата и хранителните добавки при провеждане на терапия и контрол при пациенти със сухо око [Macasai & Mojica, 2012]. Незаменимите мастни киселини и по-специално omega-3, omega-6 с осемнадест въглеродни атома в човешкия организъм се конкурират за определни ензими. При метаболизма на тези мастни киселини се получават ейкозаноиди, които модулират системното възпаление. От основно значение е относителното отношение omega-3 : omega-6 за балансиране на инфламаторните цитокини. За идеално се счита отношение 4 : 1 [Pflugfelder & Nettune, 2013; Jones et al., 2017].

В ранните етапи на развитие на сухо око (преди клинична изява) и други хранителни навици оказват влияние. Приемането на хранителни добавки с изразена антиоксидантна активност (β -Caroten, Vit. E, C, B, D, Cu, Zn и др.) водят до относително подбряване сатбилността на слъзния филм, плътността на гоблетови клетки и сквамознта метаплазия. Счите се също, че нискокалорийните диети предпазват слъзната жлеза, намалявайки оксидативния стрес. Установено е също, че приемът на алкохол предизвиква преходна обратима форма на ухото око при здрави индивиди и се счита, че при наличие на това заболяване субективната симптоматика се утежнява значително [Jones et al., 2017].

2. Глаукома

Глаукомата представлява група от заболявания, протичащи с оптична дегенеративна невропатия, характеризиращи се с патологични промени в диска на зрителния нерв и функционални изменения в зрителното поле [EGS 2014]. По данни на световната здравна организация (СЗО) глаукомата е втората по честота причина за трайна слепота след катарактата [СЗО, 2018]. Известни са множество видове глаукома, както е показано на фиг. 7.



Фиг. 7 Класификация на глаукомите (EGS, 2014). ПОЪГ- първична откритоъгълна глаукома; ПЗЪГ- първична закритоъгълна глаукома; ВОЪГ- вторична откритоъгълна глаукома; ВОН- вътреочно налягане.

Първична откритоъгълна глаукома

Най-разпространена сред различните видове глаукома в световен мащаб, както и сред нашата популация, е първичната откритоъгълна глаукома (ПОЪГ). Смята се, че до 2020г. броят на пациенти с откритоъгълна глаукома ще бъде около 60 милиона души, броят на хората с двустранна слепота ще нарастне до 11 милиона души [Quigley & Bromam, 2006]. Известни са рисковите фактори, които следва да насочат към по-детайлни и специализирани изследвания- повишено ВОН, тънка роговица, миопия, възраст над 40г, роднини, болни от същото заболяване, васкулитна предиспозиция, тютюнопушене [Dalibon, 2014]. До момента единственият начин за контрол на заболяването е свързан с понижаване на вътреочното налягане. Медикаментозната монотерапия е средство на първи избор при пациенти с ПОЪГ [EGS, 2014], като при неповлияване се добавят препарати от други фармакологични групи за понижаване на ВОН. Към агресивните и резистентни на максимална консервативна терапия форми на глаукома се подхожда с извършване на лазерни процедури и глаукомна хирургия.

ПОЪГ е хронично заболяване, изискващо продължителна консервативна терапия. Стойностите на вътреочно налягане, при които заболяването е под контрол и не прогресира се наричат прицелни. Те са индивидуални при всеки пациент като се има предвид възрастта му, коморбидност, комплайънс към провежданата терапия и поносимост към нея. Основните групи медикаменти, които се прилагат за лечение на глаукома са простагландинови аналози, бета-блокери, инхибитори на карбоанхидразата, адренергични α -2 агонисти, парасимпатикомиметици.

Бета-блокерите са сред основните медикаменти, които се използват локално за понижаване на ВОН. Те намаляват секрецията на вътреочна течност от епитела на цилиарните израстъци чрез блокиране на мембранната аденилил циклаза. Приложението на бета-блокери като монотерапия все повече отстъпва място на комбинирана двойна терапия между бета-блокери и медикаменти от други групи, като простагландинови аналози, инхибитори на карбоанхидразата и парасимпатикомиметици. Хипотензивният ефект на комбинираните препарати е значително по-висок в сравнение с този при монотерапия. С времето действието на бета-блокерите отслабва. Освен това за тях са характерни системни нежелани лекарствени реакции (НЛР) като брадикардия, бронхоспазъм, храносмилателни смущения, умора, феномен на Рейно и др., както и локални реакции на очната повърхност като сълзене, чувство за сухота и парене. Тези

характеристики допълнително предопределят ролята на бета-блокери в терапията на глаукома да бъде по-скоро адювантна отколкото основна.

Простагландиновите аналози са един сравнително нов клас медикаменти, които се появяват в началото на 90-те години на двадесети век и значително променят провежданата до този момент консервативна терапия. Техният механизъм на действие е свързан с подобряване на увеосклералния оток, чрез който значително се понижават стойностите на ВОН. Някои медикаменти от тази група се смята, че намаляват ВОН с до 35% [Dalibon, 2014]. Към настоящия момент има доста представители от тях, но всички те се отличават със сходни локални НЛР като пигментация на ириса, хиперпигментация на периокуларната кожа на лицето, увеличаване на броя, удължаване и задебеляване на миглите, конюнктивална хиперемия, чувство за парене и чуждо тяло, понякога и сърбеж. Простагландиновите аналози са мощен медиатор на възпаление, поради което посочените странични нежелани ефекти са очаквани. Въпреки изразеното субективно дразнене при локално приложение, този клас медикаменти е основен, като за новодиагностицираните глаукоми инициращата монотерапия е с простагландинов аналог [EGS, 2014]. Освен мощният хипотензивен ефект друго голямо преимущество на тези колири е тяхното еднократно приложение веднъж на 24 часа, което значително повишава комплайънса от страна на пациентите.

Карбоанхидразният инхибитор ацетазоламид е първият медикамент, използван за лечение на глаукома. В съвременната антиглаукомна терапия карбоанхидразните инхибитори заемат своето място под формата на колири и таблетки. Системното им приложение под формата на таблетки е ограничено като продължителност, но изключително важно в случаите на глаукомен пристъп и екстремно високи стойности на ВОН, неповлияващи се достатъчно от локална терапия, както и предоперативно. Въпреки мощния си хипотензивен ефект, дължащ се на блокиране на карбоанхидразата в епитела на цилиарните израстъци, при системна употреба на ацетазоламид трябва да се имат предвид и някои често срещани НЛР като метаболитна ацидоза, хипокалиемия, нефролитиаза, загуба на апетит, депресия, шум в ушите и понижено либидо [Dalibon, 2014]. Ацетазоламидът има ниска липоразтворимост, поради което е практически невъзможно да се използва под формата на колир. Ето защо през годините са разработени структурно модифицирани молекули, подходящи за локално приложение – дорзоламид и бринзоламид. Колирите на базата на тези два карбоанхидразни инхибитора имат значително по-нисък хипотензивен ефект (20%) в сравнение с простагландиновите аналози (около 30%) [Dalibon, 2014]. Поради тази причина

дорзоламид и бринзоламид се прилагат в комбинирани препарати най-често заедно с бета блокер. НЛР като локално дразнене, сълзене, повърхностен кератит и др. са възможни, но значително по-редки в сравнение с простагландиновите аналози. Комбинацията между карбоанхидразен инхибитор и бета-блоккер се явява алтернатива при непоносимост към простагландинови аналози.

Алфа-2-адренергичните агонисти осъществяват своя хипотензивен ефект, взаимодействайки с α -2 адренергичните рецептори, чрез което намаляват продукцията на вътреочна течност и увеличават увеосклералния оток. Техният хипотензивен ефект е съизмерим с този на бета блокерите- около 25% [Dalibon, 2014]. Основен представител в тази група е бримонидинът, който въпреки своята висока селективност не бива да се прилага в случаите на системен прием от страна на пациентите на монооксидазни инхибитори, трициклични антидепресанти, симпатикомиметици. Често срещани НЛР са сомнолентност, умора, сухота в устата, алергия и др. Ефикасността на бримонидин намалява бързо във времето, затова неговата актуална употреба е във фиксирана комбинация с бринзоламид. Двата медикамента имат синергистичен хипотензивен ефект, което ги прави ефективно средство за достигане на прицелните стойности на ВОН. Последната група антиглаукомни медикаменти са парасимпатикомиметиците с основен представител – пилокарпин. В миналото е използван като основно средство за лечение на глаукома. В съвременната антиглаукомна терапия пилокарпинът има своето място при лечение на закритоъгълна глаукома и овладяването на глаукомен пристъп. Механизмът му на действие е свързан с миотичния му ефект, чрез който променя конфигурацията на ириса и освобождава иридокорнейния ъгъл, което улеснява отока на вътреочна течност. Поради изключително краткото си време на полуживот ($t_{1/2}$ = 1,5-2 ч) неговото приложение особено в случаите на глаукомен пристъп, трябва да бъде многократно (пилокарпинова баня).

Псевдоексфолиативна глаукома

Псевдоексфолиативният синдром е най-честата и разпознаваема причина за развитие на вторична откритоъгълна глаукома [Rafuse et al., 2009]. По своя патохистологичен строеж псевдоексфолиативният материал представлява фибриногрануларен матрикс, изграден от фибрилин, α - еластин и базална мембрана, покрити глюкозамингликан и хиалуронова киселина. Генът LOXL1 се смята, че е свързан с омрежването между колаген и еластин в оформянето на екстрацелуларния матрикс. Към настоящия момент е възприето

схващането, че ензимът кодиран от LOXL1 играе основна роля в трансформацията на тропоеластин в еластин, което е ключово в оформянето на псевдоексфолиации. Псевдоексфолиативният материал се открива в множество извънчни структури като бял дроб, сърце, черен дроб, кожа, бъбреци и менинги, което налага схващането, че псевдоексфолиативният синдром е заболяване на съединителната тъкан [Rafuse et al. 2009]. Натрупването на псевдоексфолиации в окото е характерно за пациенти в напреднала възраст, като може да бъде както унилатерално, така и билатерално. В окото псевдоексфолиативен материал се натрупва по зеничния ръб, цилиарния епител, лещената капсула, циновите връзки, пигментния епител на ириса, трабекуларния апарат, задната повърхност на роговицата, стромата на ириса и кръвоносните му съдове. Наличието на псевдоексфолиации по зонуларния апарат и цилиарното тяло е свързано с повишен риск от усложнения по време на хирургия в съответното око. Натрупването на псевдоексфолиативен материал в трабекуларния апарат се асоциира с повишаване на ВОН, но е важно да се, отбележи, че само около 25% от всички пациенти, при които има псевдоексфолиации имат повишено ВОН, като от всички тях едва една трета развиват глаукома [Rafuse et al. 2009]. Като цяло прогнозата за пациенти, диагностицирани с глаукома и наличие на псевдоексфолиативен материал, е по-лоша, в сравнение с тези без псевдоексфолиации. При тези болни развитието на глаукомния процес е по-агресивно и е свързано с по-изразена непоносимост към локалната антиглаукомна терапия. Очната повърхност при тези пациенти реагира с по-изразено дразнене, поради намалена слъзна секреция и стабилност на слъзния филм [Akdemir et al., 2016].

3. Връзка между глаукома и сухо око

Съществува връзка между глаукома и сухо око, но причината за нея не е изяснена. Според литературни данни честотата на проява на сухота при глаукомно болни варира в широки граници: 66% [Saini et al., 2017], 59% [Leung et al., 2008] като съществуват три основно теории:

- Директна патофизиологична връзка между глаукома и сухо око;
- Влияние на антиглаукомната терапия-лекарствени вещества, понижаващи ВОН и помощни вещества (консерванти);
- Глаукомна хирургия.

Според някои теории е възможно да има директна патофизиологична връзка между двете заболявания. В подкрепа на това твърдение е установена промяна в експресията на специфични маркери на възпалението, които се откриват едновременно при сухо око и първична откритоъгълна глаукома. От най-голямо значение сред тези фактори са IL-6 и IL-4. [Benites-del-Castillo Sanchez et al., 2017]. Различните форми на откритоъгълна глаукома се асоциират с редуцирана базална секреция. Но дали това явление се дължи на автономна дисфункция или друга причина, не е ясно. Безспорно доказано е, че при вторичната откритоъгълна глаукома (псевдоексфолиативна) слъзната продукция е силно намалена.

Друго широко разпространено схващане е, че антиглаукомната терапия е причина за възникване на сухо око в 90% от случаите [Steven & Cursiefen, 2013]. От една страна медикаменти като бета-блокери потискат слъзната продукция, от друга могат да предизвикат алергизиране, с което влошават състоянието на очната повърхност. Особен интерес представляват медикаментите, прилагани за терапия на глаукома поради специфичния ѝ характер на хронично прогресиращо заболяване. Неслучайно в литературата се откриват множество статии по отношение влиянието на антиглаукомните лекарства върху очната повърхност [Mathews et al., 2013; Baudouin et al., 2013a; Vagnis et al., 2011; Giménez-Gómez et al., 2013; Villani et al., 2016]. Счита се, че в основата на тази връзка лежи наличието на консерванти в колирите [Yuksel, 2013; ; Svenkel et al., 2015]. Мултицентрово *cross-sectional* епидемиологично проучване в четири европейски държави, включващо 9658 пациенти с глаукома, показва усещане за парене или щипане, чувство за чуждо тяло или за сухота в 34,9 % - 47,5 % от случаите на пациенти, лекувани с консервант-съдържащи антиглаукомни медикаменти. Оплакванията намаляват до 14,8 % - 19,6 % при смяна на терапията с продукти, които

не съдържат антимикробни стабилизатори [Jaenen et al., 2007; Iesteretal., 2014]. Друго проучване сред 4107 пациенти установява, че честотата на клиничните находки и симптомите нараства с броя на използваните микробно стабилизирани лекарства [Pisella et al., 2002]. Според други автори по-големият брой приложени медикаменти също води до увеличаване на тези нежелани реакции [Baudouin et al., 2013b; Villani et al., 2016]. Други рискови фактори за развитие на сухо око при пациенти с глаукома или очна хипертензия включват продължителност на лечението, по-високо вътреочно налягане, тежест на глаукомата, приложение на продукти, съдържащи бензалкониев хлорид [Erb et al., 2008; Baudouin et al., 2013a].

Най-често използваните в България антиглаукомни лекарствени продукти са представени в приложение 2. Недвусмислено е установена асоциацията между приложението на такива продукти и развитието на сухо око при пациенти с глаукома [Василев и сътр., 2017]. Увеличаване на броя използвани медикаменти води до нарастване на риска от развитие на сухо око [Chen et al., 2015].

Предполага се, че действието на локалната терапия е свързано с няколко различни механизма като алергични, токсични, имунно-възпалителни ефекти или с химично взаимодействие [Gomes et al., 2017]. Данните по отношение на ефекта на самите лекарствени вещества върху очната повърхност са противоречиви и нееднозначни [Villani et al., 2016; Kurna et al., 2014]. Според основното схващане бета-блокери имат про-апоптична активност и самостоятелно, макар и в по-малка степен, увреждат очната повърхност [Actis et al., 2014; Stewart et al., 2011]. Субективното дразнене най-вероятно е свързано с увреждане на мейбомиевите жлези [Arita et al., 2012], въпреки че и други ефекти не са изключени. От различните групи антиглаукомни вещества е установено, че бета-блокери се асоциират с най-голям риск от развитие на сухо око, следвани от простагландиновите аналози [Chen et al., 2015]. Простагландиновите аналози предизвикват възпалителни промени на очната повърхност в резултат на алергизиращо дразнене, съпътствано от токсичност.

Редица помощни вещества, използвани при разработването на лекарствените форми, могат също да участват в появата и развитието на симптоми на сухота- консерванти, буфери, носители [Maïssa et al., 2010] и др. Най-широко проучени са ефектите на четвъртичните амониеви съединения с основен представител бензалкониев хлорид (ВАК), използван в концентрации от 0,004 до 0,02 %. Това са амфибилни вещества с висока водна разтворимост и повърхностна активност. Нарастващи концентрации на бензалкониев хлорид доказано водят до увреждане на слъзния филм [Labbé et al., 2011].

Счита се, че граничната концентрация за проява на токсично действие *in vitro* е 0,005% [Baudouin et al., 2010]. В основата на увреждане на очната повърхност са токсичните и проинфламаторните ефекти на ВАК върху гоблетовите клетки, продуциращи муцинозния слой [Gomes et al., 2017; Aptel et al., 2014]. ВАК стимулира продукцията на проинфламаторен цитокн IL-1 β и при продължителност на приложение на антиглаукомни медикаменти, които го съдържат, над 1 година се развива възпаление на очната повърхност [Zhou & Weuerman, 2012]. Както беше показано възпалението лежи в основата на развитие на синдрома на сухо око. Освен това ВАК притежава детергентна активност по отношение на липидите в слъзния филм и води до намаляване на неговата стабилност [Noecker et al., 2011; Freeman & Kahook, 2009]. Повърхностно активните му свойства оказват влияние също върху плътните контакти между роговичните епителни клетки и респективно повишават лекарствената пенетрация в предната очна камера [Baudouin et al., 2010; Tressler et al., 2011]. Съществуват данни, че предоперативната експозиция на ВАК се асоциира с повишен риск от неуспех на хирургичната интервенция, свързан с последващи усложнения [Baudouin et al. 2013]. Тези характерни особености на бензалкониевия хлорид водят до търсене на нови, по-безвредни консерванти като sofZiaTM (Alcon Laboratories), Purite, Polyquad[®] и др., за които се смята, че имат по-слабо токсично действие [Yuksel, 2013].

Други помощни вещества, използвани за стабилизиране на очните колири, също могат да оказват негативно влияние върху очната повърхност. Така например използваните фосфатни буфери, които коригират рН на лекарствената форма, водят до калциеви отлагания по конюнктивата [Martínez-Soroa, 2016].

Хирургията на окото е сред основните рискови фактори за развитие на сухота. Класическата пенетрираща антиглаукомната хирургия (трабекулектомия) представлява основно средство за лечение на резистентна на консервативна терапия глаукома. Формата и локализацията на конюнктивалното ламбо доказано не корелират с развитието на сухо око, но употребата на антиметаболити (митомицин С и 5-флуороурацил) за превенция на постоперативното срастване на филтрационното ламбо се асоциират с нестабилност на слъзния филм, ятрогенна загуба на лимбални стволови клетки и други [Gomes et al., 2017]. Циклофот или криокоагулацията могат да доведат до развитие на неутрофична кератопатия с последващо развитие на сухота и дискомфорт [Steven & Cursiefen 2013].

4. Субективни методи за оценка на сухо око

Съгласно последната дефиниция за сухо око субективните усещания на пациентите са неделима част от проявата на заболяването [Craig et al., 2017]. Следователно не е изненадващо, че основен метод за изследване на пациенти със сухо око е анкетният метод. Установена е нелинейна зависимост между субективните симптоми на пациентите и обективните клинични находки, която варира значително при отделните индивиди и при различните форми на сухота. Оценката на субективните оплаквания е важна от гледна точка на установяване на медицинската необходимост за допълнително изследване и терапия [Wolffsohn et al., 2017]. Снемането на анамнеза и история на заболяването при разговор с пациента е трудно да бъде стандартизирано и измерено количествено. Това налага необходимостта от прилагане на валидирани въпросници, които се попълват собственооръчно от пациентите, без намесата на лекар в началото на изследването. В последно време регулаторните агенции разработват специални структурирани и валидирани методологии за създаване на подходящи въпросници. Въпреки това, обаче, преобладаващата част от тях са създадени преди появата на тези критерии [Guillemin et al., 2012]. Като цяло с тяхна помощ се измерват оплакванията, свързани с очната повърхност, зрителната симптоматика, асоциирана със сухо око, влиянието им върху ежедневната функция и качеството на живот, съобразено със здравето [Wolffsohn et al., 2017]. Оценката е базирана предимно на тежестта и/или честотата на проява на оплакванията- дискомфорт, сухота, подуване, дразнене, парене, щипане, усещане за пясък или драскане и др. [Guillemin et al., 2012]. Най-често използваните въпросници са обобщени в таблица 2.

Табл. 2 Най-често използвани стандартизирани въпросници в клиничната практика и техните характеристики.

Въпросник	Скала за оценка на тежестта	Корелация с клинични находки	Диференциране на формите сухота
DEQ (Dry Eye Questionnaire)	липсва	много слаба	възможно
McMonnie's Questionnaire	ограничена възможност	липсва	възможно
OCI (Ocular Comfort Index)	линейна, интервална	липсва	неизвестно
OSDI (Ocular Surface Disease Index)	скала и подразделяне	известна	не

Основен недостатък на въпросниците е тяхната ниска ефективност при наличие на съпътстващо очно заболяване като глаукомата. Съществуват доказателства за наличие на корнеална хипоестезия, която пречи на субективното оценяване, както и на навременното търсене на помощ от страна на пациентите [Pflugfelder & Baudouin, 2011; Mathews et al., 2013]. Също така е установено, че с помощта на въпросниците, много често леките и умерени форми се съобщават като доста тежки от пациентите, докато тежките не се свързват с изразени оплаквания от страна на пациентите. Това се дължи на влошена сензорна перцепция, свързана с наличието на възпаление [Lemp, 2013].

5. Обективни методи за оценка на сухо око

Обективните методи за диагностика и оценка на сухо око предоставят възможност за определяне на основните фактори, които влияят върху развитието на състоянието. При провеждане на различни проучване с помощта на обективни тестове е възможно сравняване на получените резултати. Тези тестове не зависят от субективното усещане на пациента, но често могат да бъдат повлияни от конкретния метод на провеждане или опита на изследващия. Най-основно обективните методи могат да се разглеждат като инвазивни и неинвазивни и да оценяват различни показатели на очната повърхност. В последно време се разработват все повече обективни неинвазивни методи, които точно да диагностицират състоянието на сухо око [Yamaguchi et al., 2016]. В табл. 3 са представени основните методи в зависимост от вида на изследвания фактор и инвазивността на изследването.

Табл. 3 Най-често използваните инвазивни и неинвазивни методи за диагностика на сухо око.

Вид на теста	Инвазивни	Минимално инвазивни или неинвазивни
Количествен	Тест на Ширмер	Нишков тест с червен фенол
		Височина на слъзния мениск
Качествен	Флуоресцеиново време за разкъсване на слъзния филм	Интерферометрия с бяла светлина
	Флуоресцеиново багрене	Неинвазивно време за разкъсване на слъзния филм
	Слъзен осмоларитет	Поведение на течене
Други	Оцветяване с розбенгал/ зелен лисамин	Мигателна честота
	Импresiонна цитология	Степен на зачервяване
		Безконтактна мейбография

Слъзна продукция

Ширмер тест

Сухо око е едно сравнително ново заболяване. За него се заговаря за пръв път в края на деветнадесети, началото на двадесети век от немския офталмолог Ото Ширмер (Schirmer, 1903). Ото Ширмер е потомствен очен лекар, който описва подробно анатомията и физиологията на лакрималната система. Занимава се с изследване на хистологията и биохимията на лещата като се опитва да детерминира причините за развитие на катаракта. За пръв път описва усложненията по роговицата, причинени от вируса на *Vaccinia* по клепачите, но остава завинаги в историята чрез създаването на първия тест за изследване на лакримален дефицит. Предложеният от него тест е все още актуален и се приема за златен стандарт в диагностиката на сухо око.

Тестът се прилага от години не само в хуманната, но и във ветеринарната медицина.

Тестът на Ширмер се използва масово в съвременната клинична офталмологична практика поради своята практичност и достъпност. Съществуват няколко модификации на това изследване и протоколи за провеждането му [Erb, et al., 2012].

Слъзният воден дефицит е пряко свързан с понижена лакримална секреция а диагностиката изследва количеството слъза за единица време.

Тестът се провежда чрез лентичка от филтърна хартия, която предварително е разграфена в милиметрова скала. Стандарт за провеждане на изследването са тестове направени с два типа хартия Whatman № 41 или Blackribbon № 589 [García-Porta, et al., 2017]. Лентичката се прегъва в началната си част, като е важно да не бъде докосвана с голи пръсти на мястото на прегъване, тъй като повърхностните липиди от кожата са в основата на фалшиво положителните резултати [Erb et al., 2012]. Преди поставянето на тест лентата сълзата от лакрималното езеро се попива с помощта на памучен тампон. За провеждане на изследването пациентът трябва да е седнал и да гледа леко нагоре. Прегънатият край на лентичката се поставя в посока към долния конюнктивален форникс и закрепва за долния миглен ръб на границата между темпоралната и средна трета на клепача. Изследването се провежда за време от пет минути, след което резултатът се отчита в милиметри намокрена филтърна хартия. Описаното по-горе изследване е класическият тест, по известен като Ширмер I (STI). За нормални се приемат стойности над по-големи или равни на 15mm. Тест на Ширмер II (STII; модифициран тест на Ширмер от Джоунс 1975) се провежда по аналогичен начин след

накапване на локален анестетик в конюнктивалния сак, като за нормални се приемат стойности над 10 mm. При по-възрастни пациенти приложението на анестетик преди провеждане на измерването може да даде по-добра представа за състоянието на слъзните жлези, тъй като корнеалната чувствителност спрямо механични и химични стимули намалява с времето [Bron et al., 2017].

Съществува и едноминутен тест на Ширмер (ST1m). Стойностите на този тест корелират с тези на класическия, но скалата за отчитане е различна- стойности по-големи от 6mm, без приложение на локален анестетик, се приемат за граница на нормата [Erb, et al., 2012]. Основен проблем при използването на класическия тест STI е ниската възпроизводимост на резултатите [García-Porta, et al., 2017]. За да бъдат сведени да минимум различията в измерванията, са създадени протоколи дефиниращи ясно последователността и начина за провеждане на изследването [Erb et al., 2012]. Въпреки тях и наличните препоръки все още съществуват различни детайли в схващането за провеждане на теста. Някои автори препоръчват по време на изследването очите на пациента да бъдат отворени, докато други смятат, че при затворени очи се благоприятства факторите на средата да оказват по-малко въздействие върху естествения обмен на слъзите, намалявайки евапорацията. Ето защо за по-прецизна интерпретация на данните, получени от теста, е редно да се опише детайлно използваната методика за провеждане.

Нишков тест с червен фенол (Phenol Red Thread)

Нишковият тест представлява по-малко инвазивен метод за оценка количеството слъзна продукция в сравнение на ST, тъй като вместо хартиена лентичка се използва нишка, напоена с фенол. Тя се поставя в долния конюнктивален форникс за 15s, при което рН на слъзите променя цвета на нишката от червен в жълт. Стойности под 10mm са показателни за наличието на сухо око [McGinnigle et al., 2012]. При оставяне на нишката за 120s е възможно да се диференцира водно-дефицитната от евапоративната форма на сухо око като за гранична стойност се считат 20mm [Patel et al., 1998].

Слъзен клирънс

Слъзният клирънс представлява времето за елиминиране на слъзите и замяната им с нови [Шандурков, 2011]. Забавяне може да се дължи на хронично очно възпаление, което води до сенсibiliзиране на нервните окончания и предизвиква дразнене. Съществуват различни методи за измерване на клирънса. Най-съвременните от тях

включват използване на гама сцинтиграфия и флуорофотометрия за проследяване движението на молекула-маркер. При сцинтиграфията се използва радиоактивен изотоп, което е и основен недостатък на метода. При флуорофотометрията е установена висока чувствителност и се счита за златен стандарт в определянето на слъзния клирънс. Тестът се провежда като 2 μ L флуоресцеин се накапват върху очната повърхност и неговото елиминиране се наблюдава периодично с флуорофотометър. При изследването на сухо око би било полезно използването на един числов индекс, който да описва баланса между слъзна продукция и загуба и да служи за точно отдиференциране на формата на сухота. Такъв е например Функционалният Слъзен Индекс (TFI), разработен от Ху и сътрудници [Xu et al., 1995]. При неговото изчисляване се използват стойностите за слъзна секреция, получени чрез ST с анестезия, и измерване на слъзното оттичане, определено чрез флуоресцеинов клирънс. Логаритмични стойности на TFI по-ниски от 96 говорят за проява на сухо око, а по-ниски от 34 - за Синдром на Съогрен [Tomlinson & Khanal, 2005].

Менискометрия

Методът се използва за измерване на височината или обема на слъзния мениск. Менискът служи като резервоар, доставящ слъзна течност до прекорнеалния слъзен филм. Преобладаващата част от сълзите се задържат на мястото на контакт между булбарната конюнктива и границите на горния и долния клепач. Биомикроскопско определяне височината (ТМН - *tear meniscus height*), изкривеността (ТМР - *tear meniscus regularity*) и площта на напречното сечение (ТМА - *tear meniscus area*) на слъзния мениск при оцветяване с флуоресцеин се използва широко в клиничната практика и показва много добра корелация с други тестови показатели за сухо око. Количественото определяне на слъзния мениск към момента е най-директният метод за измерване на слъзния обем. За изследването се предпочита долният мениск, тъй като движението на горния клепач и сянката от миглите затрудняват измерването на горния мениск [McGinnigle et al., 2012]. ОСТ също може да се използва за измерване на показателите, свързани със слъзния мениск, но въпреки че методът е бърз и неинвазивен, съществуват затруднения при прецизното обработване на изображенията поради времеемкостта и зависимостта от субективността на наблюдателя [Wolffsohn et al., 2017]. Някои от тези ограничения могат да бъдат преодоляни чрез използване на съвременния корнеален топограф Keratograph 5M (Oculus, Optikgeräte, Germany) за определяне височината на слъзния мениск на долния клепач [Lee et al., 2017]. По отношение на използване на

показателя ТМН за разграничаване на здрава очна повърхност от сухо око са приети стойности между 0,1 mm и 0,5 mm, отчетени с флуоресцеин [McGinnigle et al., 2012]. Най-добра чувствителност (68%) и специфичност (83%) за ТМН, измерен с ОСТ, се постига при граница от 0,25mm [Ibrahim et al., 2010]. Трябва да се отбележи, че при провеждане на изследването непосредствено след определяне на неинвазивното време на разкъсване на слъзния филм е възможно да се получат фалшиво по-високи стойности. Това се дължи на необходимостта от принудително потискане на мигането докато трае изследването [Lee et al., 2017].

Евапориметрия

Съществуват редица методи за провеждане на евапориметрия, които се различават помежду си не само по процедурата на изследването, но и по начина на отразяване на резултатите [McGinnigle et al., 2012]. Най-често скоростта на изпаряване на слъзите се изразява в грамове изпарена течност от единица площ за секунда ($10^{-7}g/cm^2/s$) или подобни единици, които могат да се преобразуват. В основата на техниката стои плътно изолиране на окото от околната среда с помощта на специална камера, която силно се различава при различните изследователски групи [Wolffsohn et al., 2017]. Измерването на скоростта на евапорация се основа на отчитане промяната във влажността на въздуха, преминаващ през камерата, с прецизен кварцов сензор. Друга алтернатива е определяне на градиент на парното налягане между две точки, разположени над слъзния филм [Tomlinson & Khanal, 2005]. Съществуват и други техники, което затруднява сравняването и интерпретирането на данните [McGinnigle et al., 2012]. Въпреки това повечето проучвания установяват, че при сухо око се наблюдава повишаване в скоростта на изпаряване. Липсват, обаче, установени критерии по отношение на „нормална“ скорост на изпаряване [Wolffsohn et al., 2017]. При здрави индивиди се отчита евапорация от порядъка на $4-15 \times 10^{-7}g/cm^2/s$, докато при пациенти с установена сухота- $14-59 \times 10^{-7}g/cm^2/s$ [Tomlinson & Khanal, 2005]. Определянето на скоростта на изпаряване зависи от редица фактори като температура и влажност на околната среда, време от денонощието, влияние на изпаряването от кожата, заобикаляща окото, индивидуални особености и др. Това прави използването на метода за диагностициране и проследяване на състоянието на очната повърхност в клиничната практика предизвикателство [Wolffsohn et al., 2017].

Стабилност на слъзния филм

Слъзният филм покрива и защитава очната повърхност, а така също осигурява и ясно зрение. Стабилността му е от изключително значение за нормалното функциониране на зрителния анализатор. За охарактеризирането ѝ се използват методи, които отчитат нестабилността на слъзния филм. Съществуват различни методи за оценка на стабилността, респективно нестабилността на слъзния филм като разработването им е насочено в посока на неинвазивни техники, оценяващи голяма част от очната повърхност и позволяващи динамично проследяване на състоянието. В резултат, не всички разработени методи са подходящи за широко рутинно приложение в офталмологичната клинична практика. Сред най-често използваните методи са време за разкъсване на слъзния филм, интерферометрия, конфокална микроскопия, aberометрия и др.

Време за разкъсване на слъзния филм

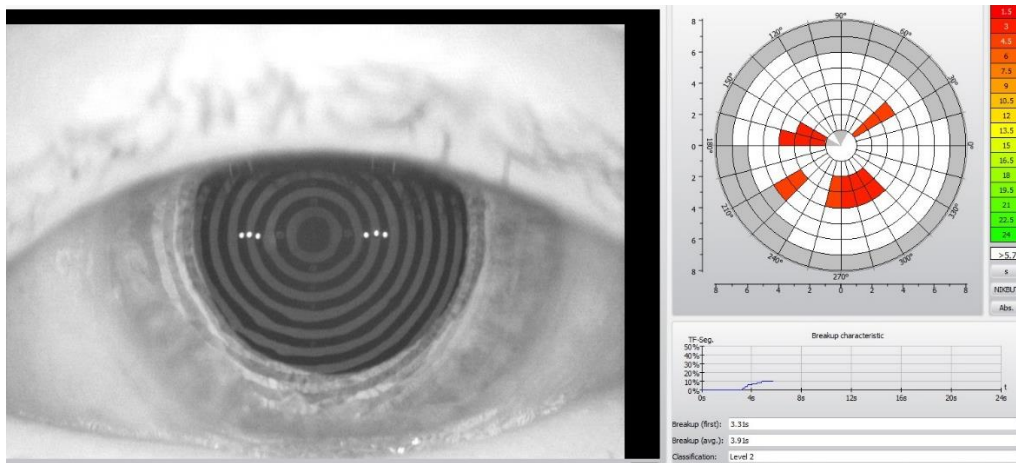
Времето за разкъсване на слъзния филм (TBUT) е въведено за първи път от Норм през 1969г. [Norm, 1969] и към момента е един от най-често прилаганите в клиничната практика методи. Отразява скоростта на загуба на слъзен филм вследствие на изпаряване. Тестът притежава потенциала да установи едновременно влиянието на различни фактори като липидната фаза, муцините и водния дефицит при нестабилността [Mcmonnies, 2018]. Класическият метод се основава на прилагане на флуоресцеин натрий и наблюдение на очната повърхност с биомикроскоп под кобалтов филтър. След прилагане на багрилото пациентът не трябва да мига [Sweeney et al., 2013]. Липсата на мигателни движения води до рефлекторно сълзене поради дразнене, откъдето е възможно получените резултати да бъдат изкривени [Mcmonnies, 2018]. Изследващият отчита времето между едно пълно премигване и първата поява на разкъсване или сухи петна по слъзния филм. Най-често тези промени се наблюдават в горната или централната роговична повърхност [Sweeney et al., 2013]. Съществуват различни схващания по отношение на разграничаващата стойност на TBUT при здрави индивиди и пациенти със сухо око. Приема се, че време за разкъсване над 10 s е характерно за стабилен филм, при стойности под 10 s е налична умерена патология, а по-ниски от 5s при изразена очна сухота [Sweeney et al., 2013; Ring et al., 2015]. Въпреки, че методът е считан за рутинен и е често използван, той се характеризира с редица недостатъци. Основният е, че методът е инвазивен [McGinnigle et al., 2012]. Приложението на

флуоресцеин значително повлиява стабилността на слъзния филми и води до изкривяване на резултатите [Best et al., 2012]. Освен това концентрацията на багрилото, приложеният обем, наличието на консерванти и рН на разтвора могат да окажат допълнително влияние върху получените данни [Sweeney et al., 2013, Ring et al., 2015; Mcmonnies, 2018]. Отчитането на времето се извършва мануално, с помощта на хронометър и се основава на субективната оценка на изследователя [McGinnigle et al., 2012], макар че в последно време съществуват опити за автоматизирано измерване на времето за разкъсване [Sweeney et al., 2013].

Като алтернативен метод, решаващ някои от ограниченията на TBUT, е въведено неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм (NIBUT). Основната разлика в провеждане на измерването е липсата на прилагане на каквото и да е вещество и липсата на физически контакт с очната повърхност. Този показател се определя с помощта на няколко различни техники, които като цяло се базират на проекция на структура върху очната повърхност. Основните структури, които се проектират върху окото, са мрежеста решетка и концентрични кръгове. NIBUT може да се отчита субективно от изследващия, каквито са първите предложени тестове, както и обективно с помощта на компютризирана система [Mcmonnies, 2018]. За първи път неинвазивно време за разкъсване е измерено от Менгер и сътрудници през 1985г. [Mengher et al., 1985]. *Tearscope*[®] е първият предложен апарат за измерване на неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм. Очната повърхност се осветява с бяла светлина в комбинация със специално пригодно устройство, което да задържа топлината далече от самата светлина, зад да не предизвика допълнително изсушаване. Изследователят наблюдава за промяна в проектираните образи и отчита времето, за което се появява тя [Best et al., 2012].

Въвеждането на кератографа позволява осветяването на очната повърхност да се извърши с 200 червени LED крушки (880 nm), при което се отделя минимално количество топлина и се редуцират температурно индуцираните промени в слъзния филм. При провеждане на изследването 22 концентрични пръстена от диска на *Placido* се отразяват от корнеалната повърхност. Софтуерът на програмата анализира различните сегменти и записва изкривяването на отразените образи като разкъсване на слъзния филм. Резултатите се представят под формата на цветно кодирана карта като червените и оранжевите сегменти кореспондират на по-бързо разкъсване. Картата предоставя също % от роговицата, засегната по време на измерването. Допълнително се

отчита времето, за което се появява първото разкъсване, както и средното време на всички наблюдавани разкъсвания [Oculus Optikgeräte, 2017] (фиг. 8).



Фиг.8 Инфрачервен режим за отчитане неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм (NIBUT) с помощта на Oculus Keratograph 5M.

Повечето литературни данни посочват по-ниски стойности на NIBUT в сравнение с флуоресцеиновия TBUT като точната причина за този феномен все още не е изяснена. Счита се, че това е свързано с автоматизираното отчитане на разкъсването, както и липсата на влияние от страна на багрилото [Mcmonnies, 2018].

Мейбомиеви жлези и методи за оценка

Дисфункцията на мейбомиевите жлези (MGD) е най-честата причина за развитие на евапоративна форма на сухо око. Според статистическите данни, посочени в литературата, MGD се асоциира с приблизително половината от случаите със сухо око, като някои изследователи приемат евапоративната форма за доминираща по отношение разпространението на заболяването в световен мащаб [McGinnigle, 2012; Wise et al., 2012]. Механизмът за развитие на тази форма на сухо око се обуславя от дефицит в липидния слой на съзлата, което води до повишено изпаряване на подлежащата водна фаза с последващо повишаване на осомоларитета, активиране на клетки, синтезиращи проинфламаторни медиатори, апоптоза със загуба на гоблетови клетки, водеща до нестабилност на слъзния филм [Lemp, 2013]. Тъй като мейбомиевите жлези представляват морфологичния субстрат за синтез на липидната фаза на слъзния филм, интересът към тяхното изследване и характеризиране се засилва през последните години. През 2011г е създадена международна работна група от офталмолози (International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction), която дефинира, класифицира и охарактеризира методите за изследване и терапевтични подходи към патологичните

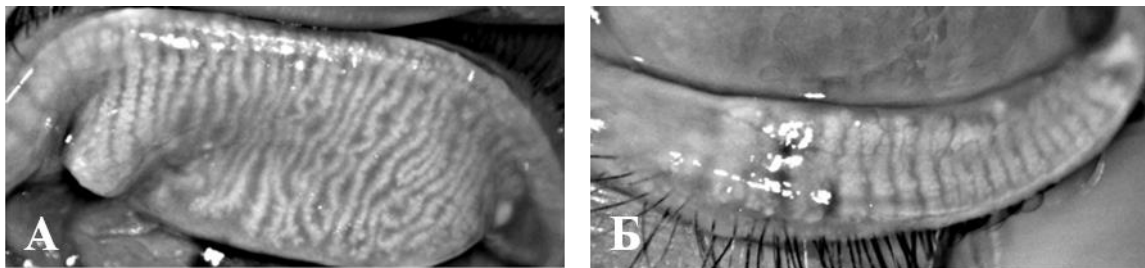
процеси на тези жлези. Според приетата от този комитет дефиниция „*Мейбомиевата дисфункция е хронична дифузна абнормалност на мейбомиевите жлези, характеризираща се с терминална дуктална обструкция и/или качествена/количествена промяна в жлезната секреция, която може да доведе до увреда на слъзния филм, очно дразнене, клинично изразено възпаление и болест на очната повърхност.*“ [Nichols et al., 2011b].

MGD може да бъде асимптомно субклинично състояние, чиято диагностика се осъществява посредством мейбография [Tomlinson et al., 2011; Van et al., 2013]. С термина **мейбография** се означават различни методи, намиращи приложение за визуализиране и заснемане на мейбомиевите жлези. Най-типичният метод е свързан с осветяване на клепача с инфрачервена светлина и заснемане на полученото изображение с ИЧ-камера [Ngo et al., 2013]. Изследването е въведено за пръв път през 1977г от Tarie, който използва биомикроскоп с инфрачервена светлина за осветяване на жлезите и ги заснема [Tarie, 1977]. Първоначално методът е свързан с контакт на светлинната сонда с кожата на клепача с последващото му обръщане, осветяване и заснемане със специална камера. Получените в резултат на изследването снимки са частични и в следствие трябва да се наслагват за получаване на цялостен образ на жлезите на целия клепач. Освен това пациентът изпитва дискомфорт, дължащ се на загряване, натиск и силна яркост предизвикани от сондата [Wise et al., 2012]. Година по-късно методът е усъвършенстван като през 2008г Arita и сътрудници въвеждат безконтактната мейбография [Arita et al. 2008]. Изследването се провежда след еверзия на съответния клепач и директно осветяване с инфрачервена светлина като наблюдението се осъществява с биомикроскоп и прикрепена към него инфрачервена видеокамера [Wise et al., 2012]. Основна характеристика на метода е липсата на дискомфорт за пациента, тъй като липсва контактът на светлинния източник с клепача.

Днес съществуват различни търговски системи за провеждане на безконтактна мейбография [Arita et al., 2017], а именно:

- BG-4M/DC-4, прикрепен за биомокроскоп (Topcon, Tokyo, Japan) [Arita et al., 2008];
- Meibom Pen (Japan Focus Corporation, Tokyo, Japan) [Arita et al., 2013];
- Eye Top топограф, Sirius Scheimpflug камера, and Cobra фундусова камера (CSO, Florence, Italy, and Bon Optic Vertriebs GmbH, Lübeck, Germany);
- Keratograph 5M (Oculus, Wetzlar, Germany) [Srinivasan et al., 2012]
- Meiboviewer 2.0 (Visual Optics, Chuncheon, Korea).

През 2012г. Srinivasan и сътрудници докладват за възможността с търговски наличния корнеален топограф Keratograph 4 (Oculus, Wetzlar, Germany and JenVis Research, Jena Germany) да се извършва мейбография [Srinivasan et al., 2012]. В последствие този апарат е доразработен в Oculus Keratograph 5M. Новата версия, въведена през 2013г, позволява значително по-лесно извършване на изследването, тъй като ИЧ-диодите осветяват с 840 nm светлина и могат да се репозиционират, за да се избегне появата на отражения, зрителното поле е значително по-голямо, при което се визуализира площта на целия клепач [Qi et al., 2017]. Освен това апаратът е снабден със софтуер за обработка на получените снимки, който изобразява по-ясно самите жлези [Ngo et al., 2013]. При този апарат пациентът сядва и поставя главата си на определено за целта фиксирано място, след което се фокусира в центъра на диска на Плачидо. Клепачът се обръща с помощта на памучен тампон и се заснема с вградената ИЧ камера (фиг. 9).



Фиг.9 Инфрачервен режим на заснемане на мейбомиевите жлези с помощта на Oculus Keratograph 5M[®] на горен (А) и долен клепач (Б) след евертиране.

Съществуват множество различни подходи за оценка на състоянието на мейбомиевите жлези, включващи общият брой, процентната загуба, дилатация на дуктусите, обструкция на орифициумите, наличие на частични жлези и други [Pult & Nichols, 2012]. Нормалните мейбомиеви жлези се визуализират като хиперилюминесцентни гроздовидни струпвания на фона на подлежащия тарз, който изглежда хипоилюминесцентен [Wise et al. 2012; Pult & Nichols, 2012; Best et al., 2012]. Най-често скалите са четиристепенни, но основната разлика между тях е дали определянето се извършва субективно от наблюдаващия или се прилага обективен критерий. Субективно степента може да се базира на факта дали жлезите са цели или частични [Pflugfelder et al., 1998]. Цели са тези жлези, които прекосяват целия клепач линейно и са с дължина 3-4mm, въпреки че може да се наблюдава и изкривяване. Жлезите, които не преминават изцяло по дължината на клепача или се срещат под формата на неправилни групи, се означават като частични [Pult & Nichols, 2012]. Друга възможност за субективна оценка е чрез определяне броя на целите жлези [Nichols et al, 2005]. Arita и колеги предлагат

друг субективен критерий, а именно площта от клепача със загуба на жлези, която изследователят определя [Arita et al., 2008]. Компютърно-базирана оценка на процентна загуба на мейбомиеви жлези предоставя възможност за обективно определяне на състоянието им [Koh et al., 2012]. На базата на този критерий е предложена 5-степенна скала с добра линейност на получените резултати [Pult & Riede-Pult, 2013]. С помощта на специализиран софтуер (ImageJ 1.42q; Wayne Rasband, National Institute of Health, Bethesda) е измерена площта на участъка, в който липсват мейбомиеви жлези и е съпоставена към площта на целия клепач [Celik et al., 2013]. Полученият показател е наречен загуба на мейбомиеви жлези (MGL) [Putl & Riede-Pult, 2012]. До момента все още липсва научен консенсус по отношение на степените на скалата и критериите, на които тя да се основава [Ngo et al., 2013; Wolffsohn et al., 2017].

Алтернативен метод за мейбография е адаптирана **конфокална микроскопия HRTII** с корнеален модул (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany). Сканирането се извършва след поставяне на анестезия на окото, контактен гел и допиране на накрайника към евертирания клепач. Получените изображения са с висока резолюция. Основно предимство на метода е възможността в реално време да се наблюдава структурата на ацините на мейбомиевите жлези на микроскопско ниво [Ngo et al., 2013]. Определянето на плътността на разположение на ацините, както и опцията за наблюдаване на възпалителна инфилтрация показват висока чувствителност и специфичност по отношение диагностицирането на обструкция на мейбомиевите жлези [Garza-Leon et al., 2017].

Оптичната кохерентна томография (ОСТ) като метод за изследване на мейбомиевите жлези е предложена за първи път през 2010 от Bizheva и сътрудници [Bizheva et al., 2010], но все още не се прилага широко за оценка на състоянието им. ОСТ позволява триизмерно визуализиране на морфологията на жлезите [Garza-Leon et al., 2017; Napoli et al., 2016]. При изследването е предложено да се използва дълговълнов източник на светлина с дължина 1300nm, за която е характерно по-малко разсейване и абсорбция в епидермалния слой на клепача и позволява по-голяма дълбочина на анализ. Въпреки това методът се характеризира с известни недостатъци като малката площ на изследване, продължителността, както и трудното компенсирание на артефакти вследствие движение на пациента при дишане или сърцебиене [Yoo et al., 2017].

Конфокална биомикроскопия

Конфокалната микроскопия представлява метод за визуализация на преден очен сегмент на клетъчно ниво *in vivo*. Предоставя възможност за количествена оценка на конюнктивалното възпаление, плътността на епителните клетки, наличието на сквамозна метаплазия и оценка състоянието на епителните жлези [Jeng et al., 2013; McGinnigle et al., 2012]. Счита се, че методът е по-малко инвазивен, но също толкова ефективен и надежден колкото импресионната цитология. Въпреки това, обаче, не е широко въведен в клиничната практика и прогностичната му способност за оценка на сухо око е неизвестна [Wolffsohn et al., 2017].

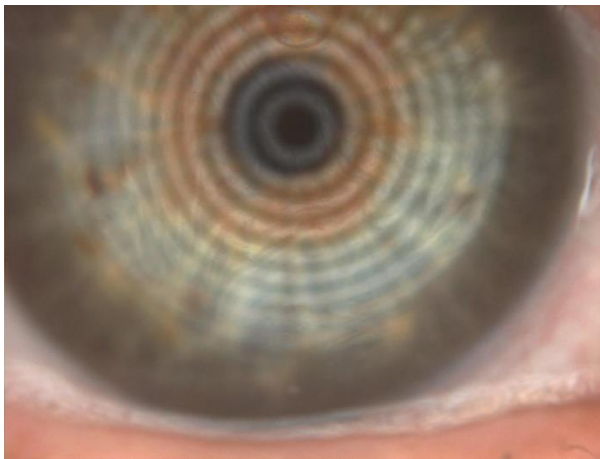
Слъзен осмоларитет

Хиперосмоларитетът има доказано ключова роля в патогенетичния механизъм за развитие на сухо око [Pflugfelder et al. 2017]. За гранична стойност между здрави индивиди и болни, страдащи от сухо око, се счита 308mOsm/L [Wolffsohn et al., 2017], въпреки че според някои изследвания 315 mOsmol/l е по-специфична граница [Lemp et al., 2011]. Съществуват три начина за определяне на осмоларитет - чрез понижаване температурата на замръзване, измерване парното налягане и електрокондуктивност. За златен стандарт се приема първият от изброените методи (понижаване температурата на замръзване), при който са необходими проби от порядъка на 0,1µL. До момента липсва бърз и достъпен апарат за масово определяне на осмоларитета на сълзата в клиничната практика. Съществуващият TearOsmometer (Advance Instruments Inc., Norwood, MA, USA), който е базиран на отчитане намаляване температурата на замръзване, изисква проби от минимум 0,5 µL за получаване на достоверни резултати, което при пациенти с тежки форми на сухота представлява сериозен проблем. Установени са вариации в осмоларитета в различни части от очната повърхност и потенциал за по-високи стойности на пробите, взети от долния мениск, които са най-предпочитани поради лесната си достъпност. Евапорацията на сълзата от момента на пробовземане до провеждане на изследването също оказва негативно влияние върху точността на резултатите [McGinnigle et al., 2012].

Интерферометрия

Интерферометрията е неинвазивен метод, чрез който може да бъде измерен и наблюдаван повърхностният липиден слой на слъзния филм. Дебелината на прекорнеалния филм се отчита чрез оптичния път между повърхността на слъзния филм

и границата му с роговицата [Jeng et al., 2013]. Наблюдаваните цветни интерференции могат да послужат за охарактеризиране природата, дебелината и разкъсването на липидния филм [Lin et al., 2014]. При здрави пациенти- контроли, е установена значително по-голяма дебелина в сравнение с пациенти със сухо око (фиг. 10) [Jeng et al., 2013]. Наблюдаваната интерферометрична структура при тях е относително постоянна за период от няколко мигателни цикъла [Tomlinson et al., 2011]. Интерферентни повърхнини се наблюдават при отразяване на светлината от границите въздух-липиди и липиди-вода на слъзния филм поради промяна в рефрактивния индекс на пречупване. В случай, че липидният слой е много тънък или липсва се забелязват следи, подобни на ресни заради пречупването на водната фаза [Tomlinson & Khanal, 2005; Wolffsohn et al., 2017].



Фиг. 10 Нормален слъзен филм

Методът може да се проведе също кинетично, при което се отчита времето, необходимо на липидния филм да достигне до стабилен интерферентен образ. Нормално това време е от порядъка на 0,5s за здрави индивиди, докато при водно-дефицитна форма на сухо око може да достигне 2-3s [Tomlinson & Khanal, 2005].

Аберометрия

Аберометрията на вълновия фронт позволява неинвазивна оценка на зрителните смущения, предизвикани от високостепенни аберации в резултат на нестабилност и разкъсване на слъзния филм [McGinnigle et al., 2012]. Всяка промяна в дебелината и равномерността на филма като тези, свързани с неговото разкъсване, предизвикват аберации и последващо влошаване качеството на получения ретинален образ. Промяна в слъзния обем и динамика водят до високостепенни аберации, които се визуализират с характерна структура. При сухо око се наблюдават значителни, но стабилни аберации, които може да са вследствие на неравномерно увреден епител в оптичната зона или много малък слъзен обем [Lin et al. 2014]. При аберометрия непосредствено след приложение на изкуствени сълзи при пациенти със сухо око е доказано намаляване на аберациите [McGinnigle et al., 2012].

Термография

Инфрачервената термография представлява метод за неинвазивно измерване температурата на очната повърхност като предоставя обективни количествени резултати. Методът се базира на факта, че при изпаряване на слъзния филм се осъществява охлаждане на повърхността между отделните мигателни движения. Съществуват данни, показващи, че поради понижената стабилност на слъзния филм при пациенти със сухо око се наблюдава ускорено охлаждане [Wolffsohn et al., 2017].

Оценка на очната повърхност

Оцветителни техники за диагностика

Целостта на очната повърхност може да се оцени посредством използването на оцветителни методи за косвена качествена оценка състоянието на слъзния филм. Тези методи включват използването на няколко оцветителни пигмента - флуоресцеин натрий, роз бенгал и зелен лисамин. Съвременният начин за провеждане на изследването е използването на лентички, напоени с различно количество от съответното багрило. Преди приложение лентичката се омокря с капка физиологичен разтвор, след което се допира до конюнктивата в областта на долния форникс. Пациентът трябва да премигне няколко пъти, за да се разпредели оцветяващото вещество по очната повърхност. Оценката на багреноста става с помощта на биомикроскоп, като за разлика от роз бенгал и зеления лисамин, оцветяването с флуоресцеин се наблюдава посредством кобалтов филтър, през който обагрените участъци по очната повърхност се визуализират в зелен цвят. Оценяването на получените резултати се извършва според няколко общоприети скали, базирани на субективното възприятие на изследвания [McGinnigle et al., 2012].

Оцветителните техники са въведени преди повече от век, но поради своята значимост те са част от съвременната клинична практика, служейки за диагностика на различни промени по очната повърхност, включително такива, предизвикани от сухо око. Още през 1882г. Флугер използва флуоресцеин за оцветяване на абразирани роговица на опитни животни. В клиничната практика на хуманната медицина тази оцветителна техника е въведена през 1888г. от Щрауб, като малко по-късно през 1891г. е използвана от Фром и Гренау. Между 1962г. и 1985г. [Bron et al., 2015] Норн провежда и публикува множество изследвания, свързани с виталното оцветяване на очната повърхност, използвайки флуоресцеин, роз бенгал, зелен лисамин, както и някои други багрила. От

получените резултати става ясно, че сухият кератоконюнктивит не може да бъде диагностициран, използвайки единствено витално оцветяване с флуоресцеин [Norm, 1969; 1973]. Доказва се, че оцветяването с флуоресцеин зависи от концентрацията на веществото и времето на експозиция [Bron et al, 2015].

Флуоресцеинът е водоразтворим и се натрупва там, където има нарушаване целостта на междуклетъчните контакти или липса на повърхностна епителна тъкан. Отчитането на резултатите трябва да стане непосредствено след поставяне на багрилото, тъй като стромалната дифузия на разтвореното вещество намалява достоверната регистрация на резултатите. При концентрация на флуоресцеина над 2% той спира да флуоресцира и изглежда тъмен. Киселинността на очната повърхност, както и локалното приложение на медикаменти с консерванти променят дължината на вълната, която стимулира флуоресценцията [McGinnigle et al, 2012].

Роз бенгал представлява дериват на флуоресцеина, служещ за откриване на повърхностни щети по конюнктивата [Doughty, 2013]. За пръв път е въведен в клиничната практика от Ширмер, а по-късно Сьогрен го популяризира, използвайки го в своите изследвания [Bron et al., 2015]. Въпреки първоначалното схващане, че роз бенгал оцветява само девитализирани клетки, сега е известно, че това вещество багри всяка част от очната повърхност, която не е покрита от слъзен филм, особено зоните с липса на мембранно-асоциирани муцини [Jeng, 2013]. Основен недостатък на метода е дразнене, стимулиране на слъзна секреция и потискане на жизнеността на епителните клетки [Wolffsohn et al., 2017].

Зеленият лисамин изисква минимална концентрация от 1% [Wolffsohn et al., 2017] и оцветява очната повърхност по аналогичен механизъм като роз бенгал като се характеризира с по-добра поносимост и по-ниска токсичност [McGinnigle et al., 2012].

Роговичният и конюнктивално багрене се считат за информативни маркери при тежки форми на сухо око. При леките и умерени форми е установена много слаба корелация със степента на заболяването [Wolffsohn et al., 2017]. Освен това оценката на резултатите е субективна и се характеризира с ниска възпроизводимост [McGinnigle et al., 2012]. Въпреки това тези методи остават важна част от диагностичния инструментариум за сухо око [Wolffsohn et al., 2017].

Флуорофотометрия

Флуорофотометрията се използва за чувствително определяне целостта на епитела. Методът се базира на измерване на флуоресценцията на очната повърхност след

приложение на флуоресцеин. Първото се провежда десет минути след като окото е промито с физиологичен разтвор, след което измерването се повтаря на всеки десет минути в рамките на един час. Оценява се флуоресцеиновото задържане в центъра на роговицата като при пациенти със сухота е установен повишен корнеален пермеабилитет и забавено елиминиране на флуоресцеина [McGinnigle et al., 2012].

Паралелни конюнктивални гънки (LIPCOF)

Паралелните конюнктивални гънки представляват гънки в латералния долен квадрант на булбарната конюнктива, успоредни на долния клепачен ръб. Счита се, че те са показателни за началните стадии на конюнктивохалаза, въпреки че се откриват известни различия. LIPCOF най-вероятно имат отношение към завършване на мигателните движения, скоростта на мигане и вискозитета на слъзния филм [Wolffsohn et al., 2017]. Имат много добра корелация с появата на сухо око [Erb et al., 2012]. Оценката за наличие на такива гънки се извършва сравнително лесно без да е необходимо оцветяване. За целта се използва биомикроскопия при 25-кратно увеличение [Wolffsohn et al., 2017]. Въпреки че не съществува универсална скала за оценка и отчитането е субективно в зависимост от опита на изследващия [Wolffsohn et al., 2017], методът позволява бързо идентифициране и улеснява диагностичния процес. Освен това поради обратното развитие, което тези гънки могат да претърпят, позволява и оценка на ефикасността на лекарствената терапия на сухо око [Erb et al., 2012]. Друга възможност за изследването им е използването на OCT [Veres et al., 2011].

Конюнктивално зачервяване

Основният клиничен показател за наличие на възпаление на очната повърхност е конюнктивалната хиперемия. Наблюдава се в резултат на дилатация на съдовете и реактивна промяна на патологични стимули. Освен за сухо око зачервяването е показателно и за множество очни заболявания като химична травма, инфекциозен и алергичен конюнктивит, глаукомен пристъп и други. Субективно може лесно да се наблюдава чрез осветяване на окото с фенерче или стандартна биомикроскопска техника [Wolffsohn et al., 2017]. В дигиталната ера се правят все повече опити методът да се обективизира чрез използване на различни софтуерни възможности за анализ и обработка на получените изображения [Wolffsohn et al., 2017]. Напълно автоматизирано и директно скалиране на булбарно зачервяване (R-scan) става възможно за първи път с Oculus Keratograph 5M [Wu et al., 2015], при който скалата е от 0,0 до 4,0 със стъпка 0,1.

Точният алгоритъм, на който е базирано това измерване, не е известен поради това, че е търговска тайна [Oculus Optikgeräte, 2013]. Най-общо резултатът се получава като съотношение между съдовете и цялата анализирана площ [Wu et al., 2015]. Установено е, че за R-scan е характерна висока резолюция по отношение на различни състояния на зачервяване на очната повърхност. Счита се, че стойности за булбарна хиперемия 1,2 или по-ниски отговарят на физиологичното състояние. При по-високи стойности има патологично изменение [Downie et al., 2016]. Основен недостатък на метода е невъзможността за отграничаване между булбарно конюнктивално зачервяване и хиперемия на склерата и еписклерата [Wu et al., 2015].

Лабораторни тестове

Кристализационен тест (Ferning test)

Капка с обем 1 μ l се взема с микропипета от долния мениск и се накапва върху предметно стъкло, върху което се оставя да изсъхне при стайна температура 20-26 $^{\circ}$ C и относителна влажност на въздуха до 50% за 10 min [McGinnigle et al., 2012]. В резултат на пренасищане на йони при изпаряването на разтворителя при здрави индивиди се формират плътни папратовидни кристали, докато в случай на сухота те са фрагментирани или липсват [Wolffsohn et al., 2017]. Този тест е свързан с охарактеризиране по-скоро на слъзния обем и по-слабо на стабилността му [McGinnigle et al., 2012; Wolffsohn et al., 2017]

Анализ на слъзните протеини

T-клетъчният възпалителния процес играе важна роля в патогенезата на сухо око. Установена е корелация между нивата на цитокините в слъзите и тежестта на симптомите и клиничната находка при всички форми на заболяването. Освен това са установени различни протеини при сухота с или без мейбомиева дисфункция. Най-често се използват проби от 10 μ L, които могат да бъдат анализирани с помощта на флоуцитометрия, двуизмерна нанотечна хроматография и наноелектропръсквателна спектрометрия. В резултат над 500 различни белтъка са идентифицирани и някои от тях биха могли да играят роля като биомаркери за диагностициране на сухо око. Известно е, че протеинът calgranulin A се свързва с усещането за пясък в окото [McGinnigle et al., 2012].

Матриксните маеталопротеинази (ММР) са протеолитични ензими, продуцирани от жлезните епителни клетки и имунните клетки, подложени на стрес. При липса на възпаление се наблюдава слаба експресия на MMP-9 за разлика от случаите на блефарит, сухо око, конюнктивохалаза и очна алергия. Съществува клинично достъпен експресен тест (10min) за измерване нивата на MMP-9 в слъзния филм (RPS Inflamm Dry Detector; RPS Inc., Sarasota, FL, USA) [Jeng, 2013].

Анализ на липидите

Мейбомиевите жлези секретират комплексна смес от полярни и неполярни липиди и белтъци, наречена мейбум. Липидният слой, който изграждат има дебелина от 20 до 160nm [Tomlinson, 2011] и основните му съставки са холестерол, восъчни естери, диестери, триацилглицероли, свободни мастни киселини и фосфолипиди [Nichols, 2011a, Zhou & Beuerman, 2012]. Мейбумът служи да забавя изпарението на водните компоненти, да предпази очната повърхност чиста и да образува бариера, която да предпазва окото от микроорганизми, органична материя като прах и полени [Nichols, 2011b]. При дисфункция на мейбомиевите жлези се наблюдава промяна в количеството, състава и съотношението на липидите [Knor et al., 2011]. Скоростта на слъзно изпарение е пропорционална с тежестта на MGD и може да доведе до проява на евапоративна форма на сухо око [Chhadva, 2017]. Това налага необходимостта от разработване на методи за изследване на слъзните липиди. Пробите могат да бъдат събрани чрез три основни процедури: меко или твърдо изстискване на мейбум от отворите на мейбомиевите жлези; микрокапилярно събиране на мейбум или чрез стерилни тест ленти на Ширмер. Получените проби могат да се анализират чрез тънкослойна хроматография и ядрено-магнитна резонансна спектроскопия, Раманова спектроскопия, газова хроматография, мас спектрометрия [Green-Church et al., 2011]. Тези методи са с висока аналитична чувствителност и позволяват качествено и количествено охарактеризиране на мейбума. Проблем представлява събирането на незамърсени проби в достатъчно количество, за да бъдат изследвани [McGinnigle et al., 2012].

Други тестове

Импresiонна цитология

Импresiонната цитология представлява минимално инвазивна процедура за вземане на конюнктивални епителни, гоблетови и възпалителни клетки от булбарната мукоза. След поставяне на локален анестетик нитроцелулозна филтърна хартия с диаметър 13mm се притиска към конюнктивата с помощта на форцепс, при което повърхностните 2-3 слоя клетки се отстраняват заедно с хартията. Пробите се фиксират с помощта на 95% етанол оцветяват се с подходящо багрило (Periodic acid-Schiff) и се наблюдават с микроскоп. Изследването позволява да се изчисли плътността на гоблетовите клетки и да се стадира сквамозната метаплазия на конюнктивалния епител [Jeng, 2013; McGinnigle et al., 2012].

ОСТ

Оптичната кохерентна томография е широко разпространен метод за изследване в офталмологичната практика. По отношение на оценка състоянието на пациенти със сухо око може да намери приложение за охарактеризиране на мейбомиевите жлези [Bizheva et al., 2010], определяне дебелината на роговичния епител [Kanellopoulos & Asimellis, 2014], измерване на слъзния мениск [Lin et al., 2014], определяне на LIPCOF [Veres et al., 2011] и др. По отношение корнеалната епителна дебелина е установена значима разлика между здрави контроли и пациенти със сухо око, като резултатите показват удебеляване на епитела при наличие на заболяването [Kanellopoulos & Asimellis, 2014].

6. Обобщение

Глаукомата представлява едно хронично невродегенеративно заболяване, което се счита за основна причина за загуба на зрителна функция в световен мащаб. Същността на заболяването, както и необходимостта на продължителна комплексна терапия, се свързват с увреждане на очната повърхност. Точният механизъм на възникване на това увреждане все още не е напълно изяснен. Според най-разпространените схващания от основно значение е продължителното приложение на лекарствени продукти, съдържащи консерванти, но не може да се изключи и увреждащото влияние на самите лекарствени вещества.

Диагностицирането на сухо око използва редица техники, които най-общо могат да се разделят на субективни и обективни. Сред субективните методи основно значение имат анамнезата и специално разработени въпросници. Съществен недостатък при тях е правилното провеждане, както и проявата на корнеална хипоестезия при глаукомно болните. Тази особеност в състоянието при наличието на ПОЪГ води до затруднено и късно установяване на сухо око. От друга страна очната повърхност е леснодостъпна с оглед провеждане на различни обективни изследвания. Въпреки това, обаче, редица фактори от околната среда (влажност, температура, осветеност и др.), както и денонощни вариации в състоянието ѝ, значително затрудняват оценката. Съществено усложняване на диагностиката се дължи също на изобилието от методи и вариации в провеждането им, както и липсата на установени универсални критерии. Независимо от това оценката на състоянието на очната повърхност сред глаукомно болни е от особено значение, тъй като може да е причина за нисък комплайънс с терапията, лош контрол на вътреочното налягане и оттам влошаване на състоянието.

Определяне на честотата на разпространение на сухо око сред популациите е затруднено от липсата на златен стандарт сред методите по отношение на диагностиката. Освен това всяко проучване използва различни критерии за разграничаване на норма от патология. Като се има в предвид и разминаване в данните, получени по субективни и обективни показатели, сухо око се явява сложна нозологична единица. Едновременно с това наличието на очна сухота значително влошава качеството на живот на пациентите и намалява тяхната трудоспособност. Неслучайно е установено, че индиректните разходи, породени от заболяването, значително превишават директните такива, свързани с лечението му.

Цел и задачи

Целта на настоящия дисертационен труд е характеризирани и сравняване състоянието на слъзния филм и мейбомиевите жлези при пациенти с глаукома и здрави доброволци посредством обективни методи за изследване.

За постигане на поставената цел бяха формулирани следните задачи:

- 1. Да се охарактеризира чрез обективни изследвания състоянието на очната повърхност на пациенти, преминали през очна клиника на УМБАЛ „Александровска“;**
- 2. Да се сравнят обективните показатели за диагностика на сухо око при пациенти с глаукома и здрави доброволци;**
- 3. Да се оцени влиянието на пола върху състоянието на очната повърхност при изследваните групи пациенти;**
- 4. Да се определи корелационна зависимост между обективните показатели за развитие на сухо око при изследваните групи;**
- 5. Да се изследва влиянието на антиглаукомната терапия върху очната повърхност;**
- 6. Да се определят диагностичните възможности на обективните методи за изследване на сухо око при пациенти с глаукома (TMS; MGL; NIBUT; ST; LTMH).**

IV. Пациенти и методи

1. Подбор на пациенти:

В настоящата работа са изследвани пациенти на възраст от 21 до 90 години, преминали през очна клиника на УМБАЛ „Александровска“ за периода януари 2016- септември 2017. Общият брой изследвани лица на база представените критерии на включване и изключване е 251 или общо 502 очи. От тях 299 очи са подразделени в 2 групи (зdravi контроли и ПОЪГ) въз основа на допълнителни критерии за включване и изключване с оглед изследване влиянието на глаукомата върху състоянието на очната повърхност.

Цялата кохорта:

Критерии за включване:

- възраст над 18г.
- зрителна острота > 0.1 (без или с корекция)

Критерии за изключване:

- възраст под 18г
- зрителна острота < 0.1
- отказ на пациента за участие в изследването

Изследване за сухо око при глаукома:

Критерии за включване на здрави контроли (ЗК):

- възраст над 30г и под 85г.;
- зрителна острота 1,0 (без или с корекция);
- здрави индивиди без общи и очни заболявания;
- вътреочно налягане $< 21\text{mmHg}$
- липса патологични промени в очните дъна.

Критерии за включване на глаукомно болни (ПОЪГ):

- възраст над 30г и под 85г.;
- зрителна острота > 0.1 (без или с корекция);
- диагностицирани с ПОЪГ;
- фундускопска находка за глаукомни промени.

Критерии за изключване:

- възраст под 30г. и над 85г
- зрителна острота < 0,1
- активна очна инфекция
- активна очна алергия
- носене на контактни лещи
- очна хирургия
- друго очно заболяване, изискващо приложение на колири
- приложение на изкуствени сълзи към момента на изследването
- системен прием на антихистамини, антидепресанти, кортикостероиди и имуномодулатори в рамките на 30 дни преди изследването
- хронични системни заболявания като алергия, атопия, ревматоиден артрит, диабет.

2. Методи

Всички изпитвания са проведени от един и същи изследовател в следната последователност: анамнеза, пълен офталмологичен статус, LTMH, RI, NIBUT, MGL, ST с цел да се избегне влиянието на всеки от тестовете върху резултатите на следващия. Между отделните изследвания има поне 5-минутен интервал. Накрая са измерени вътреочно налягане и централна роговична дебелина с оглед предотвратяване на влиянието на тези тестове върху адекватната оценка на състоянието на очната повърхност.

За оценка на състоянието на очната повърхност е използван Oculus Keratograph 5M (Oculus Optikgeräte GmbH) (фиг. 11) в няколко различни режима. Апаратът позволява неинвазивно определяне на височината на долния слъзен мениск, степента на булбалрно зачервяване, мейбография и измерване на времето за разкъсване на слъзния филм.



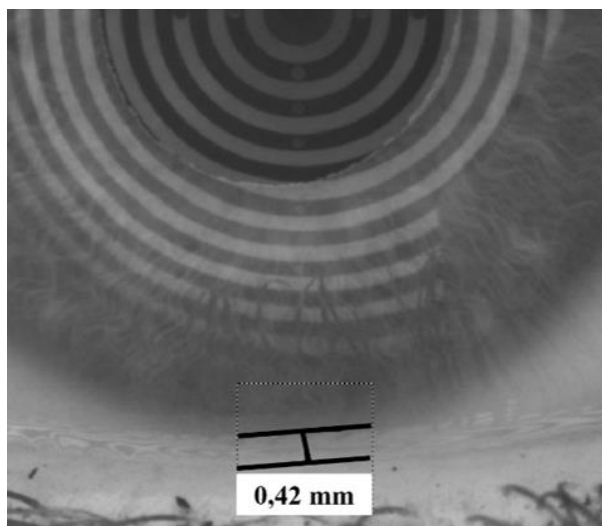
Фиг.11 Oculus Keratograph 5M® (Oculus Optikgeräte GmbH, Germany)

2.1. Снемане на анамнеза и определяне на очен статус

На всички пациенти е снета щателна анамнеза за всички налични очни и общи заболявания. При разговора с пациентите са зададени и допълнителни общи въпроси, касаещи състоянието на очната повърхност и субективните усещания и оплаквания на пациентите. Изследванията започват с определяне на зрителната функция. Тестовете за глаукома са проведени спрямо препоръките на Европейското дружество по глаукома, като за измерване на ВОН е използван апланационният тонометър на Голдман. Останалите изследвания за диагностика и проследяване на състоянието на болните са проведени с периметър на Humphrey (Zeiss®), 3D-OCT-2000 (Topcon®), пахиметър Alcon Ocuscan® RxP и триогледална леща на Голдман за оглед на иридокорнейния ъгъл.

2.2. Височина на долен слъзен мениск (ЛТМН, mm)

Измерването на долния слъзен мениск се извърши трикратно за всяко око поотделно посредством един от режимите на корнеалния топограф. Направи се снимка с апарата като се използва инфрачервена светлина с оглед избягване на рефлекторната секреция.

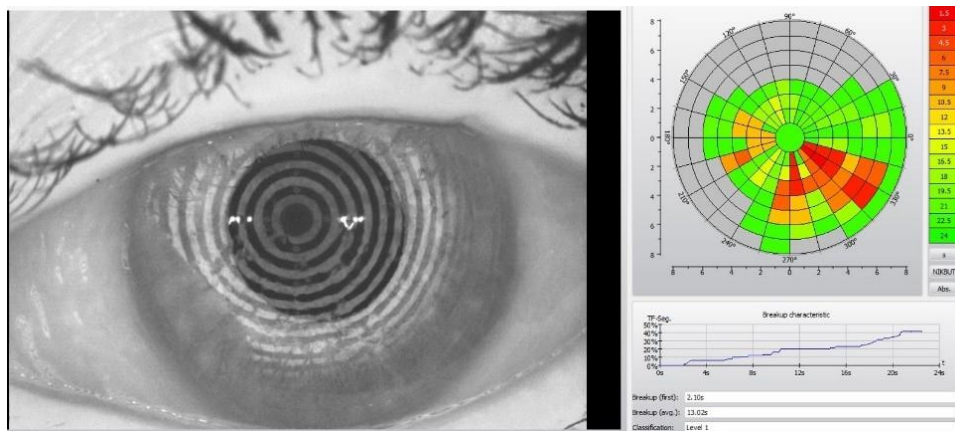


Фиг.12 Долен слъзен мениск при физиологично състояние (ЛТМН=0,42 mm).

Отчитането на височината на мениска се извърши по средата на долния клепач в централната област непосредствено под центъра на зеницата (фиг. 12). За нормални физиологични стойности се приемат тези по-високи от 0,25 mm [Ibrahim et al., 2010].

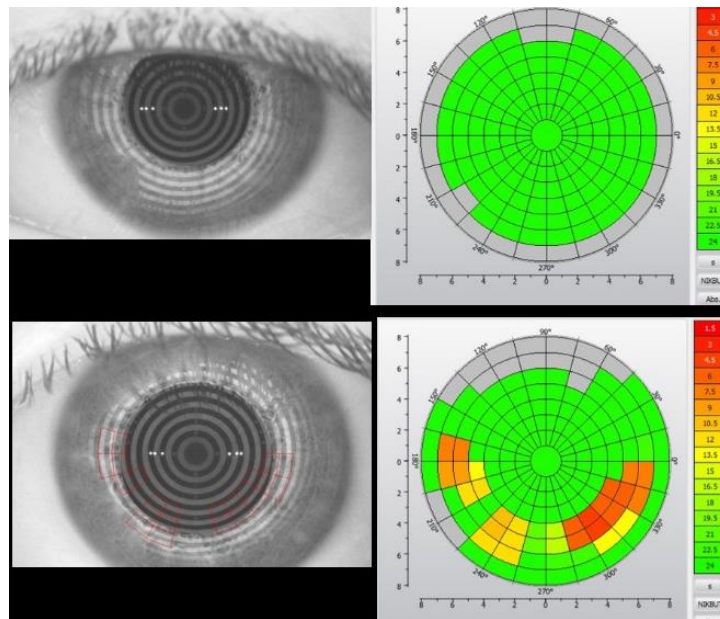
2.3. Измерване на неинвазивно време на разкъсване на слъзния филм (NIBUT₁, s; NIBUT_{AV}, s)

Неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм (NIBUT) е изследване, което се провежда трикратно за всяко око по методологията, описана от Wiedemann и сътрудници [Wiedemann et al., 2011]. При неподвижно положение на главата, поставена на апарата, пациентът фиксира с изследваното око червена точка. Изследващият го инструктира да гледа във фиксационната точка и да извърши две последователни мигателни движения, след което да отвори изследваното око и да го задържи отворено колкото е възможно по-дълго време.



Фиг.13 Неинвазивно време на разкъсване на слъзния филм при пациент с проявена очна сухота. Вляво проекциите на диска на Плачидо върху роговицата; вдясно- карта на зоните на разкъсване и стойностите на NIBUT₁ и NIBUT_{AV}.

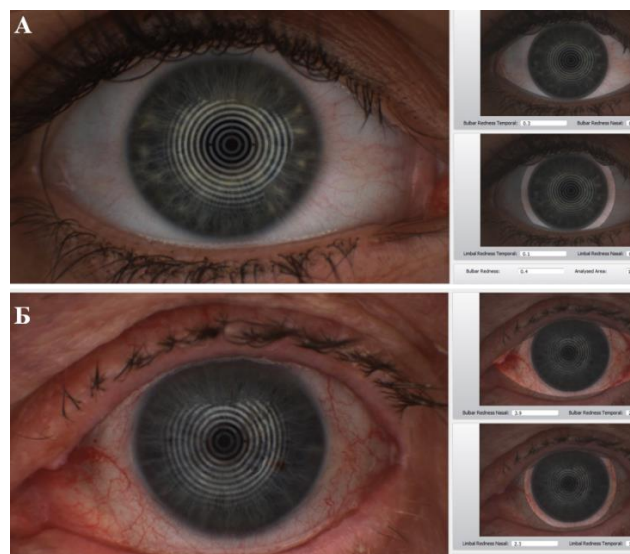
Върху роговицата в режим с инфрачервена светлина се прожектират концентрични окръжности. Апаратът отчита автоматично по сектори времето и мястото на първото разкъсване на слъзния филм в секунди (NIBUT₁, s). Софтуерът на апарата изчислява и средното време за разкъсване, отчитайки стойностите във всички сектори и това какъв процент от изследваната площ остава непокрита от слъзен филм (NIBUT_{AV}, s). Според спецификите на заложения софтуер на апарата за норма се приемат стойности над 14 s за NIBUT_{AV} (фиг. 13 и 14). Физиологични стойности за NIBUT_{AV} се считат над 14 s, а за NIBUT₁- над 10 s [Wiedemann et al., 2010]. Този показател се смята за основен при диагностиката на евапоративна форма на сухо око, тъй като кореспондира на директното време за разкъсване на слъзния филм след приложение на флуоресцеин [Erb et al., 2012].



Фиг.14 Неинвазивно време на разкъсване на слъзния филм при пациент с нормално състояние на очната повърхност и при пациент със сухо око.

2.4. Оценка степента на булбарно зачервяване (RI)

За измерването на булбарното зачервяване пациентите са помолени да гледат право напред и да фокусират върху марката в камерата, така че дискът на Плачидо да се отразява върху цялата роговична площ. Кератографът заснема изображение (фиг. 15) и автоматично изчислява RI като процесният алгоритъм е запазена информация на фирмата-производител. Измерванията са повторени трикратно на всяко око и средната стойност е използвана за по-нататъшна обработка на данните. За физиологично зачервяване говорят стойности по-ниски от 1,2 [Downie et al. 2016].



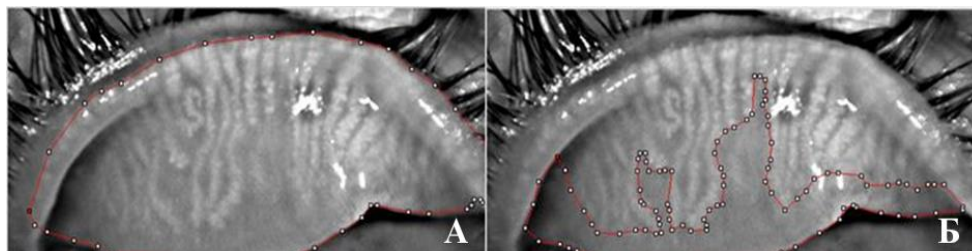
Фиг. 15 Индекс на булбарно зачервяване А- при физиологично състояние (RI = 0,4) и Б- при инекция (RI = 3,3).

2.5. Мейбография и определяне на процентната липса на мейбомиеви жлези (MGL, %; TMS)

Наличието на мейбомиеви жлези е оценено с помощта на неинвазна инфрачервена мейбография с апарата Oculus Keratograph 5M[®] по метода, предложен от Srinivasan и сътрудници [Srinivasan et al., 2012]. След приложение на локален анестетик (прохуметхацин хидрохлорид, Alcaine[®]) горният и долният клепач са евертирани и техни ИЧ изображения са заснети с помощта на камерата. Снимките са обработени с помощта на Image J 1.50i (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA) по начина, въведен от Pult и Riede-Pult [Pult & Riede-Pult, 2012]. Оценката на състоянието е извършена обективно въз основа на процентната загуба на мейбомиеви жлези (MGL%) за всеки клепач. Показателят MGL% е изчислен по следното уравнение:

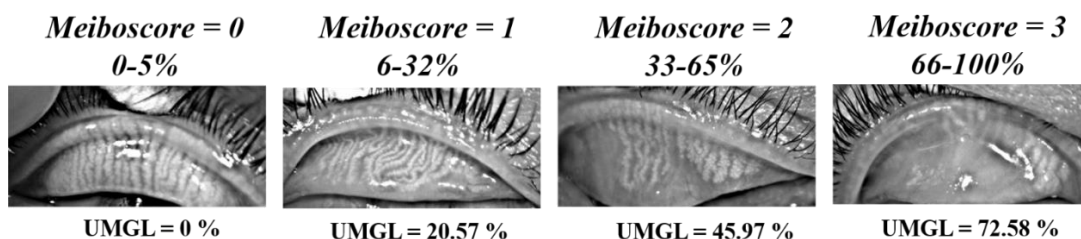
$$MGL (\%) = \frac{A_{drop-out}}{A_{total}} * 100 \quad \text{Уравнение (1)}$$

където A_{total} е площта на целия клепач (Фигура 16А), а $A_{drop-out}$ е площта (Фигура 16Б), в която липсват мейбомиеви жлези.



Фиг.16 Изображения на мейбомиеви жлези на горен клепач и отчитане на процентната им загуба. А- очертание на цялата площ на клепача (A_{total}) и Б- очертание на площта на клепача, в която липсват жлези ($A_{drop-out}$).

Допълнително е използван и показателят *meiboscore* [Arita et al., 2008; Wise et al., 2012]. Той показва колко е процентната загуба на мейбомиеви жлези общо за горен и за долен клепач в точки от 0 до 6. За всеки клепач поотделно максималният резултат е 3 точки. Загубата на жлези се измерва в проценти, като за всяка степен тя е дефинирана в съответните граници.



Фиг. 17 Мейбографски изображения на горни клепачи, съответстващи на различните степени *meiboscore*.

Нула точки *meiboscore* съответства на максимално до 5% загуба на жлези на съответния клепач *meiboscore* едно- от 6% до 32%, две- от 33% до 62%, три- от 66% до 100%. Общият *total meiboscore* (TMS) е равен на сбора точки от двата клепача. Мейбографията дава възможност тази оценка да бъде измерена обективно, документирана и проследена във времето. На фигура 17 са показани съответните степени за загуба на жлези на горен клепач, с отбелязан *meiboscore* в зависимост от измерената процентна загуба на жлези. За гранична стойност между норма и патология се приема тотолен *meiboscore* TMS ≥ 3 [Arita et al., 2009; Finis et al., 2014].

2.6. Ширмер тест (ST, mm)

За оценка на базалната слъзна продукция е използван Ширмер тест (ST) след приложение на локален анестетик- проксиметакаин хидрохлорид (Alcaine[®], Alcon). За целта на изследването 2 стерилни хартиени лентички с размери 5 x 35 mm (I-DEW tear strips, Ophthalmic Experts Ltd., Essex, UK) са прегънати и поставени в областта на темпоралната 1/3 на двата долни клепача. Пациентът е помолен да държи очите си затворени за 5 минути докато трае измерването, тъй като получените по този начин резултати са по-възпроизводими и достоверни [Didem et al., 2007]. Резултатът се отчита в mm на базата на омокрената част от лентичката след прегъвката. Съществуват доста разнопосочни мнения за това коя е физиологична стойност на така проведения Ширмер тест, но най-разпространеното е ST ≥ 10 mm за 5 min [Jones, 1966; Li et al., 2012].

2.7. Измерване на централна роговична дебелина (ССТ, μm)

Централната роговична дебелина като един от показателите за диагностика на глаукома е измерена при пациентите с помощта на Alcon Ocuscan[®] RxP пахиметър. На пациентите е приложен локален анестетик (Alcaine[®], Alcon). За всяко око дебелината е определена в μm десетократно при стандартно отклонение по-ниско от 1 и за по-натъшната обработка на данните е използвана получената средна стойност.

2.8. Статистически анализ на получените данни

Получените резултати са обработени с помощта на специализиран софтуер SPSS IBM v13.0. При интерпретация на данните е избрано критично ниво на значимост $\alpha = 0,05$. Проведена е дескриптивна статистика за разпределение на цялата извадка по пол и възраст, както и за оценка на централната тенденция (средна стойност и медиана) и

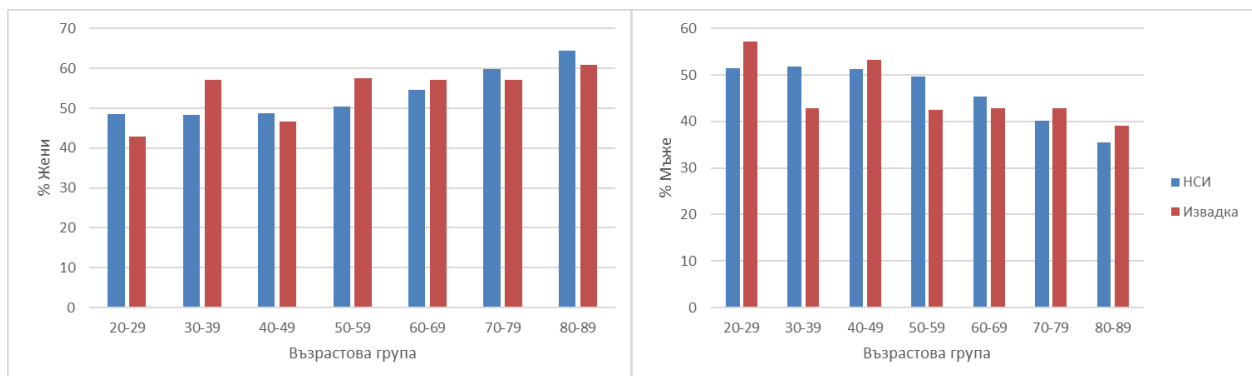
разсейването (стандартно отклонение). Допълнително е извършен тест на Колмогоров-Смирнов за оценка разпределението на получените данни. С помощта на *Inpedent samples t-test* (при нормално разпределение) и *Mann-Whitney test* (при честотно разпределение, различно от нормалното) са сравнени получените данни за всеки две независими групи. Зависимост между описателни данни с две или повече категории въз основа на кръстосана таблица е изследвана с *Chi-square test*. Изследвани са корелационни зависимости- *Pearson correlation* (при нормално разпределение) и *Spearman rho* (при рангови данни или честотно разпределение, различно от нормалното) между изследваните показатели. При изследване на взаимозависимостите може да бъде измерена както силата, така и посоката им. При еднопосочна зависимост се наблюдават положителни стойности на корелационния коефициент R (0, 1] а при разнопосочна отрицателни [-1, 0). Силата на корелацията се определя от стойността на коефициента - колкото по-близка е до нула, толкова по-слаба е връзката и обратно по-близка до единица по абсолютна стойност, толкова е по-силна. *ROC (Receiver Operating Characteristic Analysis)* – анализ е проведен за оценка на диагностичните възможности на изследваните показатели. Той дава възможност да се определи онази прагова стойност на показателя, при която с най-голяма вероятност се класифицират случаите като болни или здрави. Резултатите се представят графично като по абсцисата на координатната система се нанася специфичността или дялът на фалшиво положителните резултати, а по ординатата- чувствителността или дялът на истинските положителни резултати. Чувствителността характеризира способността на метода при наличие на заболяване да определя правилно болните като болни. Специфичността от своя страна характеризира способността на метода при отсъствие на заболяване да определя правилно здравите индивиди като здрави. От построените *ROC*-криви могат да бъдат определени cut-off стойностите на показателите, т.е. граничните стойности, които с най-голяма вероятност могат да определят наблюдаваните индивиди като болни или здрави. Тези стойности съответстват на онази точка от кривата, която е най-близко до горния ляв ъгъл на графиката. В настоящото изследване *ROC*-анализът е използван, за да се определят диагностичните способности на някои показатели по отношение на сухо око при пациенти с глаукома.

V. Резултати и Обсъждане

1. Резултати и обсъждане по Задача 1:

Охарактеризиране чрез обективни изследвания състоянието на очната повърхност на пациенти, преминали през очна клиника на УМБАЛ „Александровска“.

Настоящото изследване включва произволно общо 251 индивиди (502 очи) на възраст от 21г. до 90г. От тях 111 са мъже и 140 жени, а средната възраст в извадката е 58,5г. \pm 16г. На фиг. 18 е представено честотното разпределение на включените участници по пол и е сравнено с демографската структура на Република България към 31.12.2017г. Според данните не се наблюдава статистически значима разлика в разпределението по пол и възраст между извадката и данните на Националния статистически институт ($p=0,073$). Следователно може да се счита, че е изпълнено условието извадката да бъде представителна, макар и с по-ограничен обем.



Фиг.18 Сравняване на популяционната извадка на поручването с демографската структура на населението на Република България към 31.12.2017г. според данни на НСИ.

Данни за изследваните показатели в кохортата са представени в табл. 4. По отношение на състоянието на мейбомиевите жлези се установи известна по-висока загуба на тези жлези за долен клепач в сравнение с горен. Аналогични данни са наблюдавани и от други автори [Asbell et al., 2011; Pult & Riede Pult, 2012; Pult et al., 2012; Eom et al. 2013; Eom et al., 2014]. Като най-вероятни причини за това се считат особеностите в позицията и действието на двата клепача. При горния клепач се наблюдават по-изразени по обем мигателни движения, благодарение на които секретираният мейбум се отделя по-лесно под въздействие на механично притискане и под действие на силата на гравитацията. При долния клепач тези процеси са по-ограничени и се счита, че това е свързано с по-

изразената загуба на жлези в резултат на обструкция и атрофия [Eom et al., 2014]. Неинвазивните времена за разкъсване на слъзния филм ($NIBUT_1$ и $NIBUT_{AV}$) също са показателни за нормална стабилност на филма [Wiedemann et al., 2010; Rico-del-Viejo et al., 2018]. Първото разкъсване при здрави индивиди се счита, че се проявява при стойности над 10 s [Wiedemann et al., 2010; Tian et al., 2016]. Според литературни данни $TMS > 3$ е показател за мейбомиева дисфункция [Arita et al., 2009]. В случая при изследваната кохорта се наблюдават гранични стойности. Едновременното разглеждане на $NIBUT$ и TMS , които характеризират евапоративна форма на очна сухота, говорят за липса на такъв проблем сред изследваната кохорта.

Табл. 4 Средни стойности и стандартни отклонения на изследваните показатели в извадката.

	Mean	SD	Min	Max
Възраст	58,6	16,4	21,0	90,0
ST, mm	8,25	5,98	0	30
UMGL, %	29,00	17,14	0	100
LMGL, %	42,06	18,17	0	100
TMS	3	1	0	6
LTMH, mm	0,35	0,19	0,08	2,16
$NIBUT_1$, s	10,71	7,53	0	25
$NIBUT_{AV}$, s	13,92	6,84	2,36	25
RI	1,6	0,7	0	3
CCT, μm	536	34	455	645

Наблюдаваната средна стойност за Ширмер теста ($ST=8,25$ mm) може да се счита за свързана с проява на водно-дефицитна очна сухота, тъй като за гранична най-често се приема 10 mm [Jones, 1966; Karampatakis et al., 2010]. В същото време, обаче, височината на долния слъзен мениск (LTMH) съответства на стойностите, наблюдавани при здрави индивиди [Ibrahim et al., 2010; Wei et al., 2016]. Този показател също се свързва с проявата на водно-дефицитна форма на сухо око. Това противоречие най-вероятно може да се обясни с наличните противоречиви данни по отношение на оптимална *cut-off* стойност за Ширмер теста [Wei et al., 2016; Karampatakis et al., 2010]. В изследваната популация се наблюдава също булбарно зачервяване, което е по-интензивно от физиологичното [Downie et al., 2016].

Обща оценка на обективните показатели ($ST < 10$ mm и $NIBUT < 14$ s) говори, че при 27,3% от индивидите се наблюдава проява на сухота като 19,3% са жени, а 8%- мъже. Тази честота е малко по-висока от наличните данни за България при индивиди над 18г.

(11%) [Шандурков & Василева, 2007]. Най-вероятната причина за това разминаване се дължи на различните техники за оценка. Проведеното проучване през 2007г. използва анкетен метод сред 5650 участници. Според литературни данни анкетните методи, сред които OSDI индекс дават оценка за субективните усещания, свързани със сухо око [Wolffsohn et al., 2017], но те обикновено се проявяват по-късно в сравнение с обективната клинична находка [Hua et al., 2014]. Следователно за по-точно установяване на реалната честота на разпространение на сухо око в страната би следвало да се проведе комплексно широкомащабно проучване, обхващащо по-голям брой индивиди и включващо както обективни, така и субективни критерии.

Централната роговична дебелина на при изследваните индивиди е със средна стойност $536 \mu\text{m} \pm 34\mu\text{m}$. Сходни стойности са установени при различни проучвания: Barbados Eye study ($530 \mu\text{m}$) [Nemesure et al., 2003], Icelandic Reykjavik Eye Study ($529 \pm 39 \mu\text{m}$) [Eysteinnsson et al., 2002], Rotterdam Eye Study ($537 \mu\text{m}$) [Wolfs et al., 1997].

Табл. 5 Spearman корелационни зависимости между възрастта и изследваните показатели при всички изследвани пациенти.

Възраст, год. ↔	ST, mm	UMGL, %	LMGL, %	TMS	ССТ, μm	LТМН, mm	NIBUT ₁ , s	NIBUT _{Av} , s	RI
R	-0,291	0,471	0,266	0,419	-0,368	-0,182	-0,276	-0,271	0,366
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
N	485	502	502	502	260	500	502	502	498

Корелационната оценка на изследваните показатели и възрастта на участниците показва различна, но статистически значима връзка във всички случаи (табл. 5). Следователно възрастта е основен рисков фактор за влошаване състоянието на очната повърхност. Подобни данни недвусмислено са установени от редица други автори [Lin et al., 2003; Moss et al., 2004; Farrand et al., 2017]. Това явление е очаквано, тъй като с нарастване на възрастта като цяло се влошава дейността на редица органи и системи като зрителният анализатор не прави изключение.

Табл. 6 Сравняване на изследваните показатели въз основа на пола в цялостната извадка (Independent amples t- test).

Показател	Пол	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
LMGL, %	<i>Мъже</i>	222	39,55	18,14	0,00	84,44	-1,99	500	0,047
	<i>Жени</i>	280	43,45	18,08	0,00	100,00			
NIBUT _{Av} , s	<i>Мъже</i>	222	13,97	7,41	2,36	25,00	0,10	500	0,922
	<i>Жени</i>	280	13,89	6,51	2,61	25,00			

Табл. 7 Сравняване на изследваните показатели въз основа на пола в цялостната извадка (Mann-Whitney test).

Показател	Пол	N	Mean	SD	Min	Max	Z	p
Възраст, год.	Мъже	222	58,55	18,74	21,00	90,00	-0,53	0,599
	Жени	280	58,59	15,01	21,00	87,00		
ST, mm	Мъже	215	9,92	6,57	0,00	30,00	-3,69	<0,001
	Жени	270	7,32	5,42	0,00	23,00		
UMGL, %	Мъже	222	30,73	20,60	0,00	100,00	-0,52	0,604
	Жени	280	28,05	14,87	0,00	67,33		
TMS	Мъже	222	3,20	1,16	0,00	6,00	-0,52	0,603
	Жени	280	3,13	0,93	0,00	5,00		
ССТ, µm	Мъже	107	539,67	36,75	472,00	602,00	-1,37	0,169
	Жени	153	533,72	31,99	455,00	645,00		
LTMH, mm	Мъже	222	0,36	0,22	0,15	2,16	-1,63	0,103
	Жени	278	0,34	0,18	0,08	1,50		
NIBUT ₁ , s	Мъже	222	10,71	1,89	0,89	25,00	-0,03	0,977
	Жени	278	10,19	7,26	0,83	25,00		
RI	Мъже	220	1,68	0,66	0,00	3,00	-2,07	0,038
	Жени	278	1,51	0,65	0,00	3,00		

За синдрома на сухо око е установена известна полова специфичност и при жени се наблюдава два пъти по-често [Farrand et al., 2017]. Сравняване на получените резултати между мъже и жени показва, че значима разлика се установява само при Ширмер теста и степента на зачервяване (табл. 7), както и загубата на жлези на долен клепач (табл. 6). По отношение на загубата на мейбомиеви жлези в научната литература е установена известна разлика между половете [Arita et al., 2008; Den et al., 2006; Pult et al., 2012; Viso et al., 2012; Van et al., 2013]. Въпреки това, обаче, наличната информация е противоречива. Според някои проучвания [Airta et al., 2008; Den et al., 2006] при мъжете се установява по-голяма загуба на жлези в сравнение с тази при жените. Противоположно на това Pult и сътрудници установяват значително по-изразена промяна в морфологията и загубата на жлези сред жени [Put et al., 2012]. При всички случаи има изразена зависимост между атрофията на мейбомиеви жлези и пола [Machalinska et al., 2016; Feng et al., 2014]. В настоящето проучване се установи статистически значима разлика в загубата на жлези при двата пола само по отношение на долен клепач като при жените беше установена по-голяма загуба. Machalinska и сътрудници аналогично на настоящето изследване не установяват разлика в загубата на

мейбомиеви жлези на горен клепач, но не са изследвали състоянието на долния [Machalinska et al., 2016].

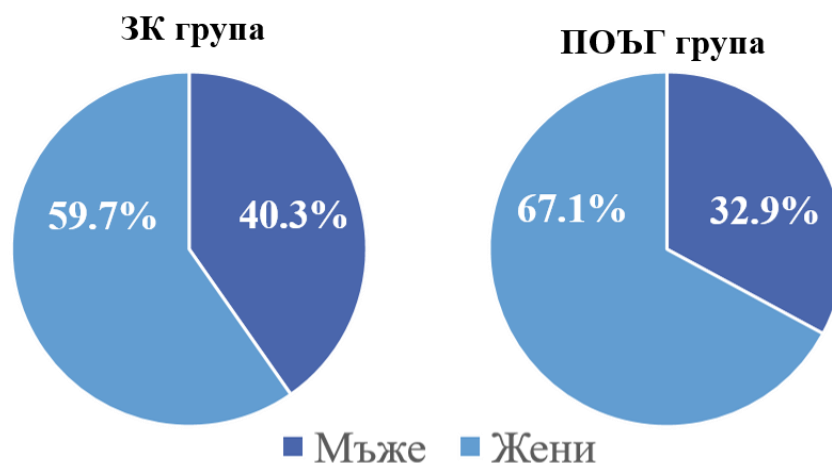
В настоящето проучване се установи статистически значимо по-интензивно булбарно зачервяване при мъжете за разлика от жените. Pult и сътрудници също установяват минимални разлики в зачервяването като при мъжете е по-изразено [Pult et al., 2008]. Причините за тези различия все още не се изяснени и се нуждаят от допълнително по-обстойно и специализирано изследване.

Синдромът на сухо око засяга преимуществено жени [Farrand et al., 2017]. Въпреки това в литературат се откриват много ограничени данни по отношение на стойностите на Ширмер тест при мъже и жени. Въпреки, че при женския пол се наблюдават малко по-ниски стойности, тези разлики не са статистически значими [Kumar & Pardesi, 2017; Ozdemir & Temizdemir, 2010]. В изследваната кохорта беше установена известна значима разлика между наблюдаваните стойности за Ширмер тест. Възможно е това да е свързано с начина на провеждане на изследването. Според литературни данни тестът е проведен след анестезия при отворени очи на изследваните, докато в настоящата работа субектите бяха помолени да държат очите си затворени. Установено е наличието на значима разлика между резултатите, проведени при отворени и затворени очи [Serruya et al., 2009], но до момента не се откриват данни за оценка на влиянието на пола при провеждане на изпитването със затворени очи.

2. Резултати и обсъждане по Задача 2:

Сравняване обективните показатели за диагностика на сухо око при пациенти с глаукома и здрави доброволци.

Въз основа на разгледаните критерии на включване и изключване част от изследваните индивиди са разпределени в две групи за по-нататъшно охарактеризиране. Предложените критерии на изключване се основават на проведено литературно проучване по отношение на основните рискови фактори, свързани с проявата на очна сухота като носене на контактни лещи [Tsubota et al., 2017; Willcox et al., 2017], активна инфекция, очна алергия, които изискват приложение на лекарствени колири [Fraunfelder et al., 2012], системен прием на някои медикаменти [Gomes et al., 2017], хронични общи заболявания [Gomes et al., 2017], очна хирургия [Li et al., 2013; Han et al., 2014; Gomes et al., 2017]. Едната група (здрави контроли- **ЗК**) включва 159 очи на средна възраст 64,7 г \pm 9,1г. Другата представлява пациенти с ПОЪГ (**ПОЪГ** група) и наброява 140 очи на средна възраст 66,1г. \pm 8,3 г. (фиг. 19)



Фиг. 19 Честотно разпределение на изследваните индивиди в двете групи по пол.

Двете групи не се различават по полово разпределение ($\chi^2=1,75$; $df=1$; $p=0,186$) и по възраст ($p=0,266$). Следователно наблюдаваните различия между двете групи не са асоциирани с влиянието на пола и възрастта.

Получените резултати в двете групи са статистически оценени за форма на разпределение на данните с помощта на теста на Kolmogorov-Smirnov, както е показано в табл. 8. Възрастта, Ширмер тестът, височината на долния слъзен мениск и първото време за разкъсване на слъзния филм показват разпределение, различно от нормалното ($p < 0,5$). Останалите данни се характеризират с нормално разпределение. Въз основа на

разпределението на данните те бяха сравнени между двете изследвани групи с помощта на Independent samples t-test (при нормално разпределение) и Mann-whitney test (непараметричен тест).

Табл. 8 Тест на Kolmogorov-Smirnov за нормално разпределение на данните.

Показател	Здрави			ПОЪГ		
	N	Kolmogorov-Smirnov Z	p	N	Kolmogorov-Smirnov Z	p
Възраст, год.	159	1,515	0,020	140	1,501	0,022
ST, mm	151	1,620	0,011	135	1,625	0,010
UMGL, %	159	1,269	0,080	140	0,777	0,582
LMGL, %	159	0,669	0,762	140	0,837	0,485
ССТ, μm	48	0,854	0,459	118	1,134	0,153
LTMH, mm	158	1,987	0,001	139	1,016	0,253
NIBUT ₁ , s	159	1,799	0,003	140	4,502	<0,001
NIBUT _{av} , s	158	1,006	0,264	139	0,836	0,487
RI	151	1,206	0,109	131	0,785	0,569

Във всички изследвани параметри се установи значима разлика между групите ЗК и ПОЪГ (табл. 9). Установените различия говорят за влошаване на състоянието на очната повърхност при глаукомно болните.

Централната роговична дебелина в ПОЪГ групата е по-ниска от тази в ЗК. Според проучване, проведено то Gordon и сътрудници [Gordon et al., 2002] централната роговична дебелина е обратнопропорционална с риска от развитие на глаукома и този риск е най-висок при стойности на ССТ $\leq 555 \mu\text{m}$.

В ПОЪГ групата се наблюдава по-голяма загуба на мейбомиеви жлези както на горен, така и на долен клепач. Тези резултати потвърждават литературни данни за наличие на мейбомиева дисфункция или атрофия при глаукомно болните пациенти [Arita et al., 2012a; Arita et al., 2012b; Agnifili, et al., 2013]. В допълнение и времето за разкъсване на слъзния филм (NIBUT_{av}; NIBUT_{1s}) при ПОЪГ групата е по-ниско. Съвкупността от тези закономерности говори за дефицит в липидния слой на слъзния филм.

Табл. 9 Сравнителен анализ на средните стойности на изследваните показатели между двете групи (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test).

Показател	Група	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Здрави	151	9,38	6,64	0,00	30,00	Z = -2,52		0,012*
	ПОЪГ	135	7,30	5,19	1,00	20,00			
LTMH, mm	Здрави	158	0,40	0,20	0,15	1,42	Z = -3,283		0,001*
	ПОЪГ	139	0,33	0,12	0,08	1,00			
UMGL, %	Здрави	159	22,87	15,01	0,00	72,58	-7,09	297	<0,001
	ПОЪГ	140	36,01	17,03	3,96	89,80			
LMGL, %	Здрави	159	38,20	17,83	0,00	79,12	-4,10	297	<0,001
	ПОЪГ	140	46,68	17,87	11,28	100,00			
CCT, μm	Здрави	48	550,96	33,67	493,00	645,00	4,04	164	<0,001
	ПОЪГ	118	529,42	30,10	455,00	618,00			
NIBUT _{Av} , s	Здрави	158	15,11	6,84	2,36	25,00	2,29	295	0,023
	ПОЪГ	139	13,32	6,62	2,47	25,00			
NIBUT _{1s}	Здрави	159	11,73	7,90	1,27	25,00	Z = -2,33		0,02*
	ПОЪГ	140	9,56	6,93	2,17	25,00			
RI	Здрави	151	1,31	0,54	0,40	3,00	-6,80	280	<0,001
	ПОЪГ	131	1,75	0,55	0,80	3,30			

От друга страна статистически значими разлики между здрави и болни се наблюдават и при Ширмер теста (ST) и височината на слъзния мениск (LTMH). В 80% от случаите с ПОЪГ се установяват стойности на Ширмер тест под 10 mm, което означава, че е налична понижена базална слъзна секреция. Тежка увреда на лакрималната секреция (ST < 6) се наблюдава при 52,1% от случаите. Сходни данни са установени и от други учени [Jandrokovic et al., 2013], което потвърждава увреждащото влияние на първичната откритоъгълна глаукома върху очната повърхност. Височината на слъзния мениск е неинвазивен показател, който подобно на ST показва за наличие на дефицит във водната фаза на сълзата. В случая 25% от пациентите в групата на ПОЪГ имат стойности на LTMH под 0.25mm. При тези пациенти страда секрецията на основната- водна част от слъзния филм.

На базата на TMS, NIBUT_{av} и ST се определят различните форми на сухо око. При TMS ≥ 3 [Arita et al. 2009] и NIBUT_{av} < 14s [Wiedmann et al. 2010] се наблюдава нарушена стабилност на слъзния филм. При комбинирането на тези показатели с ST > 10mm [Lemp et al.2012] може да се отдиференцира евапоративната форма на сухо око. В изследваната ПОЪГ кохорта се установи 11,8 % тази форма на сухо око. Според критериите за водно – дефицитна форма TMS < 3, NIBUT_{av} ≥ 14 s, ST ≤ 10 mm, тя се наблюдава в 4%. От

получените резултати става ясно, че евапоративната форма се среща три пъти по-често от водно-дефицитната. Това е в унисон от установената тенденция от други колективи [Stapleton et al. 2015]. Смесената форма на сухота е най-честа сред пациентите с ПОЪГ - 38.6% ($TMS \geq 3$, $NIBUT_{av} < 14s$, $ST \leq 10mm$), като при нея има едновременно засягане на водната и липидна част на сълзата [Rege et al., 2013]. В настоящата работа беше установена асоциация на сухо око с ПОЪГ в 54,4 %. Литературните данни по отношение на връзката между двете заболявания посочват честота между 35 % [Gomes et al., 2017] и 65,3 % [Erb et al., 2008]. За България до момента е установена връзка при 85 % от случаите [Шандурков & Василева, 2007]. В направеното изследване не се посочва конкретната форма на глаукома. Следователно асоциацията в 54,4 % от случаите на ПОЪГ, определена чрез обективни тестове, може да се счита за меродавна.

В ПОЪГ групата се наблюдава също значително изразено булбарно зачервяване ($RI=1,75 \pm 0,55$). Подобни резултати относно инекцията са установени от Perez-Bartolome и сътрудници [2017].

Увреждането на очната повърхност при пациентите с ПОЪГ може да бъде в следствие на самото заболяване или на влияние на прилаганите хронично антиглаукомни медикаменти. Оценка на въздействието на продължителността на приложение и състава на антиглаукомните колири е извършена в задача 5.

3. Резултати и обсъждане по Задача 3:

Оценка влиянието на пола върху състоянието на очната повърхност при изследваните групи пациенти.

Счита се, че женският пол е основен рисков фактор за развитие на сухо око [Farrand et al., 2017]. Затова в настоящето проучване се изследва влиянието на пола върху състоянието на очната повърхност при здравите доброволци и при наличие на първична откритоъгълна глаукома. По отношение на групата на ЗК статистически значими разлики между мъжете и жените се установяват за стойностите на Ширмер теста, централната роговична дебелина и степента на зачервяване (табл. 10).

Табл. 10 Сравнение на данните по пол в ЗК групата (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test)

Показател	Пол	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Мъже	60	11,03	7,46	0,00	30,00	2,378	149	0,020
	Жени	91	8,29	5,83	0,00	23,00			
UMGL, %	Мъже	64	24,87	16,53	0,00	72,58	1,146	157	0,255
	Жени	95	21,52	13,81	0,00	65,91			
LMGL, %	Мъже	64	35,79	17,57	0,00	69,71	Z = - 0.784		0.433*
	Жени	95	39,82	17,91	0,00	79,12			
TMS	Мъже	64	3,0	0,91	2,0	5,0	1,103	157	0,273
	Жени	95	3,23	1,1	1,0	5,0			
CCT, μm	Мъже	12	572,25	28,31	522,00	602,00	2,846	46	0,009
	Жени	36	543,86	32,61	493,00	645,00			
LTMH, mm	Мъже	63	0,35	0,13	0,17	0,83	0,858	159	0,393
	Жени	95	0,34	0,19	0,15	1,42			
NIBUT ₁ , s	Мъже	63	9,74	6,51	2,04	25,0	1,147	159	0,254
	Жени	95	11,46	8,21	0,00	25,0			
NIBUT _{AV} , s	Мъже	63	15,43	7,51	2,36	25,00	Z = -0.60		0.952*
	Жени	95	14,89	6,39	3,02	25,00			
RI	Мъже	60	1,45	0,58	0,50	3,00	2,086	149	0,040
	Жени	91	1,23	0,49	0,40	2,60			

Наблюдаваната централната роговична дебелина при жените ($543,9 \pm 32,6 \mu\text{m}$) е значимо по-ниска от тази при мъжете ($572,3 \pm 28,3 \mu\text{m}$). Сходни данни при здрави индивиди установяват и от други учени [Hoffmann et al., 2013]. Може да се счита, че това е една от причините развитието на глаукома да е по-рисково при жени в сравнение с мъже [Vajaranant et al., 2010].

Степента на зачервяване при мъжете е значимо по-висока от тази при жените в изследваната здрава кохорта. Това потвърждава налични данни за по-изразена конюнктивална инекция при мъжкия пол [Murphy et al., 2007; Put et al., 2008]. Реалният механизъм за тези различия все още не е изяснен и изисква допълнително изследване.

Табл. 11 Сравнение на данните по пол в ПОЪГ групата (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test)

Показател	Пол	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	<i>Мъже</i>	46	8,89	5,72	1,00	20,00	-2,397	133	0,018
	<i>Жени</i>	89	6,48	4,72	1,00	20,00			
UMGL, %	<i>Мъже</i>	46	39,45	22,33	7,15	89,80	-1,689	138	0,94
	<i>Жени</i>	94	34,33	13,55	3,96	67,14			
LMGL, %	<i>Мъже</i>	46	44,03	17,77	12,34	84,44	Z= -1,029		0,304*
	<i>Жени</i>	94	47,98	17,87	11,28	100,00			
TMS	<i>Мъже</i>	46	3,64	1,06	2,0	6,0	-0,589	138	0,557
	<i>Жени</i>	94	3,54	0,83	2,0	5,0			
CCT, μm	<i>Мъже</i>	38	528,95	31,62	472	599	-0,350	116	0,727
	<i>Жени</i>	80	529,64	29,55	455	618			
LTMH, mm	<i>Мъже</i>	46	0,32	0,09	0,15	0,52	0,410	137	0,683
	<i>Жени</i>	93	0,33	0,13	0,08	1,00			
NIBUT ₁ , s	<i>Мъже</i>	46	8,72	6,64	2,17	25,0	0,847	138	0,398
	<i>Жени</i>	94	9,79	6,86	2,23	25,0			
NIBUT _{AV} , s	<i>Мъже</i>	46	12,41	7,26	2,47	25,00	Z = -1.646		0.100*
	<i>Жени</i>	93	13,77	6,27	2,61	25,00			
RI	<i>Мъже</i>	42	1,79	0,54	0,90	3,30	-0,256	129	0,798
	<i>Жени</i>	89	1,74	0,56	0,80	3,30			

В ПОЪГ групата значима е разликата само в ST (табл. 11). Централната роговична дебелина при глаукомно болни не се различава при двата пола, аналогично на други публикувани данни [Hoffmann et al., 2013]. Индексът на булбарна хиперемия (RI) в тази група също не показва разлики между двата пола. Това го прави подходящ фактор за изследване сред глаукомно болни и позволява оценката на влиянието на заболяването и неговата терапия върху очната повърхност [Baudouin et al., 2015].

Във всички случаи в настоящето проучване се наблюдават по-ниски стойности на ST при жените в сравнение с мъжете. Тази тенденция се запазва и при наличие на съпътстващо очно заболяване. Следователно може да се счита, че по отношение на диагностиката на сухо око при глаукомно болни пациенти Ширмер тестът не позволява съвсем точна оценка на състоянието на очната повърхност. В такъв случай би трябвало

да се търсят други показатели, които не се влияят от пола на индивидите, за да се оцени по какъв начин слъзният филм се уврежда при наличие на глаукома.

Табл. 12 Сравнителен анализ на данните за мъжете в двете изследвани групи (Independent samples t-test).

Показател	Група	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	<i>Здрави</i>	60	11,03	7,46	0,00	30,00	1,616	104	0,109
	<i>ПОЪГ</i>	46	8,89	5,72	1,00	20,00			
UMGL, %	<i>Здрави</i>	64	24,87	16,53	0,00	72,58	-3,936	108	<0,001
	<i>ПОЪГ</i>	46	39,45	22,33	7,15	89,80			
LMGL, %	<i>Здрави</i>	64	35,79	17,57	0,00	69,71	-2,413	108	0,017
	<i>ПОЪГ</i>	46	44,03	17,77	12,34	84,44			
CCT, μm	<i>Здрави</i>	12	572,25	28,31	522,00	602,00	4,233	48	<0,001
	<i>ПОЪГ</i>	38	528,95	31,62	472,00	599,00			
LTMH, mm	<i>Здрави</i>	63	0,35	0,13	0,17	0,83	1,348	107	0,181
	<i>ПОЪГ</i>	46	0,32	0,09	0,15	0,52			
NIBUT _{AV} , s	<i>Здрави</i>	63	15,43	7,51	2,36	25,00	2,108	107	0,037
	<i>ПОЪГ</i>	46	12,41	7,26	2,47	25,00			
RI	<i>Здрави</i>	60	1,45	0,58	0,50	3,00	-3,064	100	0,003
	<i>ПОЪГ</i>	42	1,79	0,54	0,90	3,30			

Допълнително беше сравнено състоянието на очната повърхност според обективните показатели при всеки един от половете поотделно. При мъжете основната тенденция за стойности, говорещи за сухо око, при глаукомно болните се запазва (табл. 12). Установи се липса на значима разлика между двете групи по отношение на обективните показатели, характеризиращи водната фаза (ST, LTMH). Това дава основание да се смята, че при мъжете ПОЪГ не влияе съществено върху водната фаза на слъзния филм. За всички други показатели се наблюдава значима разлика.

Честотата на разпространение на различните форми на сухо око сред мъже с ПОЪГ беше установена въз основа на трите основни показателя TMS, NIBUT_{AV} и ST. Евапоративната форма (TMS \geq 3; NIBUT_{AV} < 14 s и ST > 10 mm) при изследваните в настоящата работа пациенти се среща при 7,1 %, водно-дефицитната (TMS < 3; NIBUT_{AV} > 14 s и ST \leq 10 mm)- при 0,1 %, а смесената форма (TMS \geq 3; NIBUT_{AV} < 14 s и ST \leq 10 mm)- при 11,8 %.

Аналогичен анализ при жените показва, че ST при ПОЪГ групата е значимо по-нисък от този при ЗК. В същия момент, обаче, LTMH не показва значима разлика. Интересно е да се отбележи разминаването между наблюдаваните резултати при двата показателя, описващи водната фаза на слъзния филм при жените. Най-вероятната причина за този

факт е, че менискът измерва обема на слъзата, докато Ширмер тестът определя слъзната продукция. Височината на слъзния мениск зависи от мигателната честота, дължината на долния клепач, отстоянието на мейбомиевите жлези от сивата линия и др. фактори, които не са свързани със скоростта на слъзна продукция [Lamberts et al., 1979]. Следователно при жените с ПОЪГ се установява намалена базална слъзна секреция, но не се открива статистически значима разлика в обема на слъзата в сравнение със ЗК. Липсата на значима разлика при мъжете говори за по-изразеното протективно действие на тестостероновите нива по отношение на слъзната жлеза [Machalinska et al., 2016].

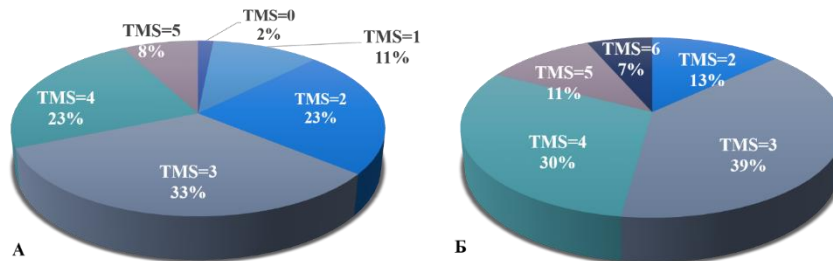
Табл. 13 Сравнителен анализ на данните за жените в двете изследвани групи (Independent samples t-test; * Mann-Whitney test).

Показател	Група	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
UMGL, %	<i>Здрави</i>	95	21,52	13,81	0,00	65,91	-6,437	187	<0,001
	<i>ПОЪГ</i>	94	34,33	13,55	3,96	67,14			
LMGL, %	<i>Здрави</i>	95	39,82	17,91	0,00	79,12	-3,139	187	0,002
	<i>ПОЪГ</i>	94	47,98	17,87	11,28	100,00			
CCT, μm	<i>Здрави</i>	36	543,86	32,61	493,00	645,00	2,322	114	0,022
	<i>ПОЪГ</i>	80	529,64	29,55	455,00	618,00			
LTMH, mm	<i>Здрави</i>	95	0,34	0,19	0,15	1,42	0,585	186	0,559
	<i>ПОЪГ</i>	93	0,33	0,13	0,08	1,00			
RI	<i>Здрави</i>	91	1,23	0,49	0,40	2,60	-6,517	178	<0,001
	<i>ПОЪГ</i>	89	1,74	0,56	0,80	3,30			
ST, mm	<i>Здрави</i>	91	8,29	5,83	0,00	23,00	Z = 2,061		0,039*
	<i>ПОЪГ</i>	89	6,48	4,72	1,00	20,00			
NIBUT _{AV} , s	<i>Здрави</i>	95	14,89	6,39	3,02	25,00	1,16		0,246*
	<i>ПОЪГ</i>	93	13,77	6,27	2,61	25,00			

Сред жените с ПОЪГ беше установена следната честота на разпространение на различните форми на сухо око, а именно: 4,7 % евапоративна форма ($TMS \geq 3$; $NIBUT_{AV} < 14$ s и $ST > 10$ mm); 3,9 % водно-дефицитна форма ($TMS < 3$; $NIBUT_{AV} > 14$ s и $ST \leq 10$ mm); 26,8 % смесена форма ($TMS \geq 3$; $NIBUT_{AV} < 14$ s и $ST \leq 10$ mm).

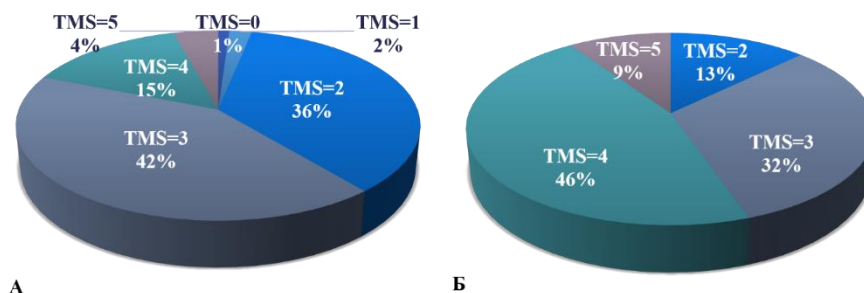
Тоталният *meiboscore* е безмерна величина, която охарактеризира цялостното състояние на мейбомиевите жлези на горен и долен клепач [Arita et al., 2009]. Сред изследваните мъже и жени беше установена честотното разпределение на индивидите в % в зависимост от тоталния им *meiboscore*. При разглеждане на получените данни при мъжете (фиг. 20) прави впечатление значително по-изразеното засягане на жлезите при пациентите с ПОЪГ в сравнение със ЗК. При ЗК преобладават индивидите с $TMS \leq 3$ (69 %), докато в ПОЪГ групата те са по-малко (52 %). Освен това трябва да се отбележи, че

граничната стойност TMS=3 е сравнително с еднаква честота в двете групи. Разликата се дължи на факта, че при здравите индивиди се установяват степени 0 и 1, които отговарят на минимална загуба на мейбомиеви жлези. При глаукомно болните такива степени не се откриват изобщо, т.е сред пациентите с ПОЪГ неизменно се установява липса на мейбомиеви жлези.



Фиг. 20 Честотно разпределение на изследваните мъже здрави контроли (А) и ПОЪГ пациенти (Б) според total miboscore.

При жените от двете изследвани кохорти беше определено също честотното разпределение според тоталния *miboscore*. Аналогично на същия анализ при мъжете се установява по-малка загуба на мейбомиеви жлези общо за двата клепача в групата на ЗК в сравнение с ПОЪГ. Известните различия между честотното разпределение може да са вследствие на различно влияние на полови хормони. Не се установява статистически значима разлика между средните стойности на TMS при двата пола, както в групата на здравите ($p=0,273$), така и в групата на глаукомно болните ($p=0,557$). Поради еднаквата възрастова структура на мъжете и жените в двете групи ($p=0,09$; $p=0,12$) наблюдаваната разлика между ЗК и ПОЪГ групите би могла да се обясни с наличието на очно заболяване, а именно ПОЪГ. Въпреки това, обаче, не става ясно дали загубата на жлези е в резултат на самата нозологична единица или на прилаганата терапия. Влиянието на терапията е изследвано в задача 5.



Фиг. 21 Честотно разпределение на изследваните жени здрави контроли (А) и ПОЪГ пациенти (Б) според total miboscore.

В литературата се откриват данни, сочещи че хормоналният статус оказва съществено влияние върху състоянието на очната повърхност [Sullivan et al., 2002; Yamagami et al.,

2002; Sullivan et al., 2017]. Следователно в настоящето проучване е изследвано влиянието на менопаузата върху обективните показатели за оценка. Съгласно критериите на СЗО за жени в пост-менопаузална възраст са приети тези на повече от 45г [СЗО, 1982]. Последователно беше оценено влиянието на хормоналния статус при здравите контроли и ПОЪГ пациентите.

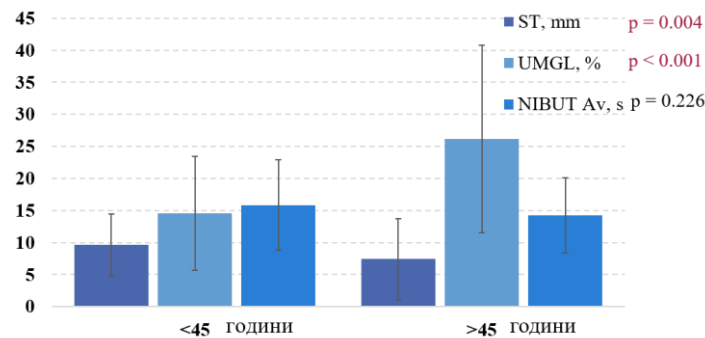
Табл. 14 Сравнителен анализ на изследваните показатели при здравите контроли на жени под 45г. с жени над 45г. възраст (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test).

Показател	Жени < 45г.		Жени > 45г		t	df	p
	Mean	SD	Mean	SD			
UMGL, %	14,58	8,91	26,15	14,6	4,364	93	<0,001
LMGL, %	37,56	19,27	41,32	16,95	1,003	93	0,319
CCT, μm	556	35	534	27	2,116	34	0,042
NIBUT_{Av}, s	15,87	7,06	14,24	5,88	1,219	93	0,226
RI	1	0,3	1,4	0,5	4,353	89	<0,001
ST, mm	9,6	4,9	7,4	6,3	Z = 2,85		0,004*
LTMH, mm	0,30	0,11	0,37	0,22	Z = 2,35		0,019*

При разглеждане на показателите, охарактеризиращи очната повърхност при жени под и над 45 г от ЗК група (табл. 14), се забелязват някои статистически значими разлики. Прави впечатление, че загубата на жлези на горен клепач е почти два пъти по-висока при жени в постменопаузална възраст. Това явление е очаквано, тъй като възрастта оказва съществено влияние върху състоянието на мейбомиевите жлези [Machalinska et al., 2016]. Намаляване в нивата на плазмените андрогени и естрогени се свързва с увреждане на морфологията и функцията на мейбомиевите жлези [Ablamowicz et al., 2016]. При разглеждане на резултатите за загуба на жлези на горен клепач при мъже и жени над 45г. възраст в ЗК група (табл. 16) и ПОЪГ група (табл. 17) не се открива значимо вариране в стойностите. Но сравняване на данните при мъже и жени под 45г. (табл. 15) показва значима разлика. При жените под 45г. възраст нивата на естрогени са значително по-високи от нивата след менопауза. Отчитаните разлики в настоящото проучване показват, че жените са подложени по-изразени хормонални промени, които водят до различно засягане на очната повърхност. Подобни данни за по-изразена промяна в морфологията на мейбомиевите жлези при жени са докладвани и от други колективи [Pult et al., 2012].

По отношение на Ширмер теста (фиг. 22) се наблюдава понижаване в стойностите при жените след 45 годишна възраст (табл. 16) в сравнение с тези в по-млада възраст. С понижаване нивата на естрогените се забелязва и по-ниска слъзна секреция [Feng et al.,

2015]. Тази промяна в производството на водна фаза не е свързана единствено с възрастта, тъй като при мъже не е установена подобна значима промяна [Willcox et al., 2017].



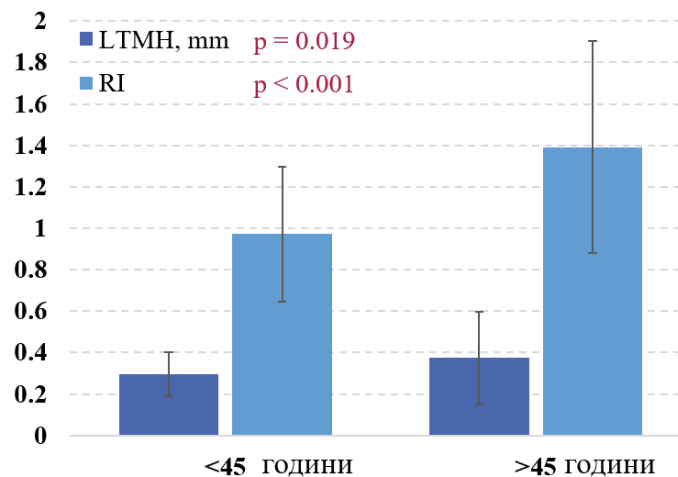
Фиг. 22 Влияние на хормоналния статус при жените от групата на ЗК върху показателите ST, UMGL, NIBUT_{Av}.

Стабилността на слъзния филм (фиг. 22) при жените от двете възрастови групи не показва значима разлика. Този показател се влияе от множество фактори, свързани с циркадианни промени и въздействие на климатични и микроклиматични условия на околната среда [Sweeney et al., 2013]. Освен това е установена значима разлика между стойностите на показателя, измерени в различни части на денонощието [Lira et al., 2011]. В настоящото проучване измерването на NIBUT беше проведено без специализирано контролиране на микроклимата и в различни времеви диапазони. Следователно наблюдаваната липса на значимо вариране на показателя в това проучване не означава еднозначно, че хормоните не оказват въздействие върху стабилността на филма. Наблюдаваните в настоящата работа резултати потвърждават литературни данни за липсата на зависимост между стабилността на слъзния филм и пола [Sharanjeet-Kaur et al., 2016].

Табл. 15 Сравнителен анализ на изследваните показатели при здравите контроли между мъже от всички възрасти и жени под 45г. (Independent samples t-test).

Показател	Мъже		Жени < 45г		t	df	p
	Mean	SD	Mean	SD			
ST, mm	11,0	7,5	9,6	4,9	1,020	94	0,310
UMGL, %	24,87	16,53	14,58	8,91	3,536	100	0,001
LMGL, %	35,79	17,57	37,56	19,27	-0,474	100	0,637
ССТ, μm	572	28	556	35	1,296	26	0,206
LTМН, mm	0,35	0,13	0,30	0,11	2,141	99	0,035
NIBUT_{Av}, s	15,43	7,51	15,87	7,06	-0,289	99	0,773
RI	1,5	0,6	1	0,3	4,510	94	<0,001

Значима разлика се наблюдава също в булбарното зачервяване при сравняване на жени под 45г. с по-възрастни жени (фиг. 23) и с мъже (табл. 15). При пременопаузалните жени очното зачервяване е значително по-ниско в сравнение с постменопаузалните или в сравнение с мъжете. Това явление вероятно може да се дължи на по-високите нива на естрогени, тъй като те оказват протективно действие върху очния кръвоток [Schmidl et al., 2015].



Фиг. 23 Влияние на хормоналния статус при жените от групата на ЗК върху показателите LTMH, RI.

По отношение височината на долния слъзен мениск също беше установена значима разлика в ЗК групата при жени под и над 45г. възраст (фиг. 23). Прави впечатление, че при постменопаузалните жени стойностите на LTMH са по-високи в сравнение с жените в детеродна възраст. Парадоксално са установени по-високи стойности на LTMH при наличие на мейбомиева дисфункция, което говори, че при евапоративната форма на сухо око увреждането на очната повърхност е свързано по-скоро с променен състав и хиперосмоларитет отколкото със засилено изпаряване на сълзите [Tung et al., 2015]. Освен това при сравняване с мъжете значима разлика се установява само спрямо жени под 45г. (табл. 15). Това потвърждава влиянието на тестостерона върху слъзната жлеза за по-интензивната слъзна продукция [Truong et al., 2014]. След менопауза антагонистичното действие на естрогните по отношение на мъжките полови хормони върху очната повърхност значително намалява при не толкова голяма промяна в нивата на тестостерон [Willcox et al., 2017]. Следователно слъзният мениск при по-възрастните индивиди не се различава значимо между половете както в ЗК група, така и в ПОЪГ група.

Табл. 16 Сравнителен анализ на изследваните показатели при здравите контроли между мъже от всички възрасти и жени над 45г. (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test).

Показател	Мъже		Жени > 45г		t	df	p
	Mean	SD	Mean	SD			
UMGL, %	24,87	16,53	26,15	14,6	0,449	119	0,655
LMGL, %	35,79	17,57	41,32	16,95	1,756	119	0,082
ССТ, μm	572	28	534	27	3,786	30	0,001
NIBUT _{Av} , s	15,43	7,51	14,24	5,88	0,962	118	0,338
RI	1,5	0,6	1,4	0,5	0,545	113	0,587
ST, mm	11,0	7,5	7,4	6,3	Z = 2,690		0,007*
LTMH, mm	0,35	0,13	0,37	0,22	Z = 0,192		0,848

Централната роговична дебелина при изследваните кохорти се различава значимо само при сравняване с жени над 45г. в групата на ЗК (табл. 15 и табл. 16). В постменопаузални жени стойностите ѝ са значително по-ниски. Това потвърждава установена положителна корелационна зависимост между нивата на естрогените в урината и централната роговична дебелина [Vertino, 2016].

При пациентите не беше възможно да се извърши сравнителен анализ между мъже от всички възрасти и жени под 45г., тъй като изследваните очи на индивиди от женски пол не бяха достатъчни (n=4).

Табл. 17 Сравнителен анализ на изследваните показатели при ПОЪГ пациентите между мъже от всички възрасти и жени над 45г. (Independent samples t-test; *Mann-Whitney test).

Показател	Мъже		Жени > 45г		t	df	p
	Mean	SD	Mean	SD			
UMGL, %	24,87	16,53	34,70	13,45	1,554	136	0,123
LMGL, %	35,79	17,57	48,30	17,89	1,325	136	0,187
ССТ, μm	572	28	527	26	0,281	114	0,779
NIBUT _{Av} , s	15,43	7,51	13,78	6,33	1,145	135	0,254
RI	1,5	0,6	1,8	0,6	0,419	127	0,676
ST, mm	11,0	7,5	6,5	4,8	Z = 0,320		0,020*
LTMH, mm	0,35	0,13	0,33	0,13	Z = 0,132		0,895

Обобщено резултатите, разглеждащи влиянието на пола и половите хормони върху състоянието на очната повърхност, показват комплексността на проблема. Наличието на множество противоречиви данни в литературата също сочи за необходимостта от детайлно и широкоаспектно разглеждане въздействието на пола и хормоните при развитието на сухо око [Vehof et al., 2018].

4. Резултати и обсъждане по Задача 4:

Определяне корелационна зависимост между обективните показатели за развитие на сухо око при изследваните групи.

В двете групи беше проведен корелационен анализ между основните обективни показатели, описващи състоянието на очната повърхност. В групата на ЗК се установи слаба корелация между Ширмер теста и NIBUT₁, както и Ширмер теста и LTMH (табл. 18). В групата на ПОЪГ пациенти съществува значима корелация единствено между ST и LTMH. Тази корелация е очаквана и в двете групи, тъй като и двата показателя са свързани с обема на слъзната течност и охарактеризират развитието на водно-дефицитна форма на сухо око при стойности по-ниски от граничните. Счита се, че 75-90 % от обема на слъзите е събран в долния слъзен мениск [Holly, 1985]. Установената корелация на ST с NIBUT₁ при ЗК е интересна и би могла да се обясни с факта, че водният дефицит се отразява на стабилността на слъзния филм и пълно разграничаване между показателите за водно-дефицитна и евапоративна форма на сухо око не може да бъде направено. Подобни данни са наблюдавани и от други колективи [Isreb et al., 2003; Wang et al., 2005].

Табл. 18 Корелационен анализ (Spearman's rho) между данните от Ширмер теста (ST) и останалите изследвани параметри в двете групи.

Група			UMGL, %	LMGL, %	TMS	NIBUT ₁ , s	NIBUT _{AV} , s	LTMH, mm	RI
ЗК	ST, mm	R	-0,054	-0,044	-0,076	0,258	0,240	0,230	-0,006
		p	0,506	0,592	0,351	0,001	0,003	0,004	0,944
		N	151	151	151	151	151	151	145
ПОЪГ	ST, mm	R	0,051	0,052	0,061	0,078	0,079	0,210	-0,028
		p	0,561	0,547	0,482	0,371	0,362	0,015	0,750
		N	135	135	135	134	134	134	128

В двете изследвани групи се наблюдава корелационна зависимост между загубата на мейбомиеви жлези на горен и долен клепач (табл. 19). Аналогични данни са докладвани от други учени [Pult et al., 2012]. Прави впечатление, обаче, че при наличие на ПОЪГ зависимостта е с по-малка сила. Това може да се дължи на въздействието на антиглаукомните медикаменти, които се прилагат в долния форникс и респективно би могло да се очаква по-изразена токсичност върху мейбомиевите жлези, разположени по долния клепач. Влиянието на локалната терапия е разгледано в задача 5.

Табл. 19 Корелационен анализ (Pearson correlation) между загубата на мейбомиеви жлези на горен и долен клепач при двете изследвани групи.

Група			LMGL, %
ЗК	UMGL, %	R	0,384
		p	<0,001
		N	159
ПОЪГ	UMGL, %	R	0,268
		p	0,001
		N	140

В групата на ЗК беше установена средно силна значима отрицателна корелация между тоталния meiboscore и времето за разкъсване на слъзния филм (табл. XX). Тази зависимост е очаквана, тъй като мейбомиевите жлези са отговорни за продукцията на липидна фаза, осигуряваща стабилността на слъзния филм [Arita et al., 2017]. В групата на ПОЪГ отново се установява подобна, но по-слаба и статистически незначима зависимост. Най-вероятната причина за това е, че стабилността на слъзния филм при наличие на съпътстващо очно заболяване не зависи само от състава на мейбума и може да се повлияе съществено от други фактори като приложението на медикаменти. Освен това както беше показано неинвазивното време на разкъсване на слъзния филм е в корелация с Ширмер теста, т.е. върху неговите характеристики влияние оказва в известна степен и водната фаза.

Табл. 20 Корелационен анализ (Spearman's rho) между данните от TMS и останалите изследвани параметри в двете групи.

Група			NIBUT _{AV} , s	LTMH, mm	ССТ, μm	RI
Здрави	TMS	R	-0,337	0,121	-0,051	0,291
		p	<0,001	0,130	0,730	<0,001
		N	158	158	48	151
ПОЪГ	TMS	R	-0,163	0,132	-0,084	0,094
		p	0,056	0,120	0,367	0,288
		N	139	139	118	131

Поотделно разглеждане на взаимодействието между загуба на мейбомиеви жлези на долен и горен клепач и стабилността на слъзния филм (табл. 21) показва значима корелация между UMGL, LMGL и NIBUT_{AV} в групата на здравите. Това потвърждава влиянието на цялостната загуба на жлези върху стабилността на слъзния филм при здравите контроли. В ПОЪГ групата значима отрицателна корелация се наблюдава само спрямо загубата на жлези на горен клепач, т.е. колкото повече жлези от горния клепач

отпадат, толкова по-ниски стойности на времето за разкъсване на слъзния филм се наблюдават. В групата на ЗК се установява положителна корелация между UMGL и LMGL ($p < 0,001$; $R=0.384$). Такива данни са показани и от други учени [Pult et al., 2012]. Но в групата на глаукомно болните такава асоциация не се наблюдава ($p = 0,1$; $R=0,268$). Може да се предполага, че загубата на мейбомиеви жлези на долния клепач е в следствие на прилаганите антиглаукомни медикаменти, но на горния клепач те оказват по-малко пряко въздействие. Респективно мейбомиевите жлези на горен клепач оказват влияние върху времето за разкъсване на слъзния филм.

Табл. 21 Корелационен анализ (Pearson correlation) между неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм при двете изследвани групи. *Spearman's rho

Група			UMGL, %	LMGL, %	LTMH, mm	RI
Здрави	NIBUT _{Av, S}	R	-0,192	-0387	0,038*	-0,086
		p	0,015	<0,001	0,637	0,292
		N	158	158	157	151
ПОЪГ	NIBUT _{Av, S}	R	-0,207	-0,061	0,123	0,075
		p	0,014	0,474	0,150	0,395
		N	139	139	139	131

Установена е корелация между загубата на мейбомиеви жлези (*meiboscore*) и възрастта на пациентите, показваща намаляване на броя им с напредване на възрастта [Arita et al., 2017]. Въпреки това загуба на жлези се установява и при деца на възраст между 3 и 11 години [Wu et al., 2017]. Следователно може да се счита, че наличието или отсъствието на мейбомиеви жлези е свързано и с генетична предиспозиция. Като недостатък на настоящето проучване може да се посочи фактът, че то е обсервационно и не проследява изменението в състоянието на жлезите с времето. Това означава, че отчетените различия в групата на глаукомно болните може да е в резултат на различно първоначално състояние при тези пациенти. Аналогично е положението и в групата на ЗК. Следователно за оценка на количественото въздействие на ПОЪГ върху мейбомиевите жлези би следвало да се проведе проспективно проучване. Въпреки това трябва да се има в предвид, че инфрачервената мейбография е един нов метод, който има все по-голям потенциал за рутинна клинична употреба и дава възможност за допълнителни проспективни изследвания в тази област.

Настоящата работа за първи път изследва корелационна зависимост между централната роговична дебелина и обективните показатели за охарактеризиране на очната повърхност (табл. 22). ССТ има онтошение към отчитане на ВОН при изследване на

глаукома и се провежда стандартно при тези пациенти. Резултатите от проведения корелационен анализ показват, че в групата на ПОЪГ се установява статистически значима отрицателна взаимовръзка между CCT и UMGL ($R = -0,264$), както и положителна такава между CCT и NIBUT_{AV} ($R = 0,194$).

Табл. 22 Корелационен анализ между централната роговична дебелина (CCT) и някои от обективните показатели за оценка на очната повърхност.

Група			UMGL, %	LMGL, %	NIBUT _{AV} , s
Здрави	CCT, μm	R	-0,131	-0,058	-0,185
		p	0,377	0,696	0,207
		N	48	48	48
ПОЪГ	CCT, μm	R	-0,264	-0,055	0,194
		p	0,004	0,558	0,036
		N	118	118	117

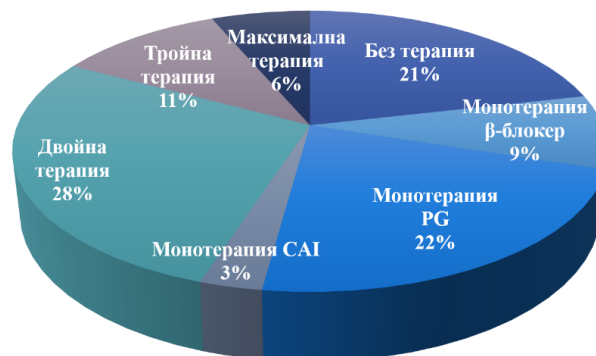
Макар и слаби, тези зависимости биха могли да се използват за насочване вниманието на изследващия към развитието на евапоративна форма на сухо око. Според проведената бинарна логистична регресия се установи, че всяко намаляване на стойността на CCT с 1 μm води до 1,2 пъти увеличаване на риска от загуба на мейбомиеви жлези над 19 %, т.е. до евапоративно сухо око ($p=0,014$; 95% CI 0,973-1,518). В същото време понижаване на CCT с 1 μm води до 1,1 пъти намаляване на NIBUT_{AV} до стойности под 14s и отново се наблюдава евапоративна форма на сухота ($p=0,05$; 95% CI 1,000-1,28).

Счита се, че стратифицираният роговичен епител съставлява между 5-10 % от общата роговична дебелина [Ali et al., 2017]. Нивата на експресия на матриксната металлопротеиназа MMP1 при ПОЪГ са доказано по-високи в сравнение със здрави индивиди [Markiewicz et al., 2015]. При дисбаланс в нивата на MMP1 и съответния тъканен инхибитор се наблюдава изтъняване на роговичната дебелина. При сухо око е установена деструктивна кератолиза и корнеално изтъняване, а в някои случаи дори и улцерации поради свръхекспресия на MMP1 [Ali et al., 2015]. Това вероятно е свързано с прогностичната способност на CCT за ранно откриване на сухо око при ПОЪГ. Освен това съществуват доказателства, че намаляване на нивата на естрогените при жените в постменопаузална възраст са свързани с намаляване дебелината на роговицата и повишен риск от развитие на очна сухота [Turgut et al., 2017]. Въпреки, че точният механизъм на тези асоциации все още не е установен, това дава основание да се счита, че CCT при пациенти с ПОЪГ е от съществено значение за ранна диагностика на сухо око.

5. Резултати и обсъждане по Задача 5:

Изследване влиянието на антиглаукомната терапия върху очната повърхност.

Поради необходимостта от хронична терапия на глаукомата и доживотен контрол на вътреочното налягане, състоянието на очната повърхност при ПОЪГ не може да се разглежда без да се вземе в предвид влиянието на локалните медикаменти. В изследваната ПОЪГ група беше определена честотата на прилагане на различни антиглаукомни колири (фиг. 24).



Фиг. 24 Честотно разпределение на пациентите от ПОЪГ групата в зависимост от наличната терапия към момента на изследване. (CAI- карбоанхидразни инхибитори; PG-простагландинови аналози).

21 % от изследваните индивиди са без терапия към момента на провеждане на тестовете, тъй като това представляват случаи на новооткрита ПОЪГ. Основната част от пациентите (34 %) прилагат един медикамент, който най-често е от групата на простагландиновите аналози, следвани от бета-блоккерите и накрая карбоанхидразните инхибитори. Двойната терапия, независимо от комбинацията, е следваща по честота на прилагане (28 %). Най-малка част от пациентите са на тройна (11 %) или максимална (6 %) комбинация. В приложение 2 са представени най-често използваните лекарствени продукти в България за локално лечение на глаукома с техните активни и помощни вещества. Сред пациентите, прилагачи колири, средната давност на терапията е 4г., като тя варира между 6 месеца и 15г.

Увеличаване продължителността на антиглаукомната терапия е свързана с влошаване на обективните показатели, характеризиращи състоянието на очната повърхност (табл. 23). Значима средно силна корелационна зависимост се установява по отношение на показателите LMGL, LTMH и RI. Най-вероятната причина е свързана с мястото на приложение на антиглаукомните медикаменти в долния форникс. В резултат на това на най-интензивно въздействие са подложени мейбомиевите жлези на долен клепач, които

и без допълнителното въздействие на колирите се характеризират с по-изразена стаза на мейбум [Eom et al., 2014].

Табл. 23 Корелационен анализ (Spearman's rho) между продължителността на антиглаукомната терапия и изследваните обективни показатели за оценка на състоянието на очната повърхност.

Продължителност, год ↔	ST, mm	UMGL, %	LMGL, %	NIBUT _{Av} , s	TMS	LTMH, mm	RI
R	-0,089	0,102	-0,239	-0,098	-0,084	-0,221	0,334
p	0,306	0,232	0,004	0,252	0,322	0,009	<0,001
N	135	140	140	139	140	139	131

Очната хиперемия е характерна поради дразнещото въздействие както на самите лекарствени вещества, така и на включените помощни вещества в колирите и по-специално бензалкониев хлорид. Така продължителното приложение се асоциира с нарастващо булбарно зачервяване. Нерядко това е и причина за нисък комплайънс с антиглаукомната терапия и води до нейното преустановяване, което е рисково за неблагоприятното развитие на ПОЪГ [Inoue, 2014].

Използването на комбинирани лекарствени продукти увеличава вероятността от поява на сухо око при глаукома с 1,71 пъти (95% доверителен интервал 1,44-2,04) [Chen et al., 2015]. в настоящето изследване се установи, че по-големият брой използвани медикаменти корелира с ST, LMGL и RI (табл.24).

Табл. 24 Влияние на броя използвани медикаменти върху показателите, описващи очната повърхност.

бр ЛВ ↔	ST, mm	UMGL, %	LMGL, %	NIBUT _{Av} , s	LTMH, mm	RI
R	-0,179	0,039	-0,233	-0,149	-0,009	0,197
p	0,038	0,647	0,006	0,080	0,913	0,024
N	135	140	140	139	139	131

При изследване влиянието на съдържанието на бензалкониев хлорид в антиглаукомните колири се установиха влошени обективни показатели, но значима разлика се наблюдава единствено по отношение на степента на булбарно зачервяване (табл. 25). В литературата съществуват противоречиви данни, свързани с ефектите на ВАК върху очната повърхност [Cvenkel et al., 2015]. Редица фактори могат да оказват влияние върху тези противоречивите наблюдения. Такива са естествени флукуации в състоянието на очната повърхност през деня, разлики в изследваните популации, особеностите на околната среда, както и в методиките на изследване и стойностите за отдиференциране на състоянието.

Табл. 25 Влияние на наличието на бензалкониев хлорид в колирите върху показателите, описващи очната повърхност.

Показател	ВАК	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Не	47	8,34	5,60	1,00	20,00	1,71	133	0,090
	Да	88	6,75	4,91	1,00	20,00			
UMGL, %	Не	51	34,04	16,84	9,81	88,39	-1,04	138	0,302
	Да	89	37,14	17,13	3,96	89,80			
LMGL, %	Не	51	49,41	19,44	12,89	100,00	1,37	138	0,172
	Да	89	45,12	16,82	11,28	88,93			
NIBUT _{Av} , s	Не	51	13,34	6,26	3,91	25,00	0,03	137	0,976
	Да	88	13,30	6,85	2,47	25,00			
LTMH, mm	Не	51	0,32	0,11	0,08	0,52	-0,75	123	0,458
	Да	88	0,33	0,13	0,14	1,00			
RI	Не	49	1,62	0,57	0,80	3,30	-2,15	129	0,033
	Да	82	1,83	0,53	0,90	3,30			

В настоящата работа не беше оценено евентуалното влияние на други консерванти, както и не беше сравнена концентрацията на ВАК сред използваните лекарствени продукти. Недвусмислено, обаче, се наблюдава значително по-високо булбарно зачервяване при наличие на този консервант. Това говори за изявен токсичен и алергизиращ ефект на бензалкониевия хлорид, което е доказано в редица проучвания [Freeman & Kahook, 2009; Baudouin et al., 2010; Noecker & Miller, 2010; Iester et al., 2014; Svenkel et al., 2015].

При колирите, съдържащи простагландинови аналози, се наблюдава малко по-интензивно булбарно зачервяване (табл. 26), което е в унисон с налични данни за изразена хиперемия при тези ЛВ [Abelson et al., 2003;]. В случая установената разлика, обаче, не е статистически значима. Разликата между настоящите резултати и литературните данни вероятно се състои в различните техники, използвани при оценка на инекцията. Освен това различните представители обикновено са оценявани самостоятелно [Abelson et al., 2003], докато в настоящето проучване не беше сравняван видът и концентрацията на прилагания простагландинов аналог.

При простагландиновите аналози е установено увреждане на мейбомиевите жлези [Mocan et al., 2016], което се наблюдава и в това проучване (табл. 26). Предполагаемият механизъм е свързан с експресията на EP2 и EP4 рецептори върху себацейните жлези и активирането на циклооксигеназа 1 и 2, които допринасят за развитие на възпалителна компонента [Alestas et al., 2006]. Повишената загуба на мейбомиеви жлези от своя страна

е свързано с намалена продукция на липидна фаза и очаквано по-ниски стойности на времето за разкъсване на слъзния филм. Въпреки по-ниските стойности на $NIBUT_{AV}$ (табл. 25) $NIBUT_1$ (табл. 26) в случай, че се използват простагландинови аналози спрямо липсата им, разликите не са статистически значими. Аналогични данни се установяват и от други изследователи [Arita et al., 2012].

Табл. 26 Влияние на съдържанието на простагландинови аналози в колирите върху показателите, описващи очната повърхност (*Mann Whitney test).

Показател	PG	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Да	76	6,95	4,98	1	20,0	0,208	138	0,836
	Не	64	7,14	5,66	0	20,0			
UMGL, %	Да	76	38,12	17,65	7,15	77,95	-2,929	138	0,004
	Не	64	27,47	19,21	3,96	89,80			
LMGL, %	Да	76	44,49	16,06	11,28	84,44	1,589	138	0,114
	Не	64	49,29	19,62	12,34	100,0			
TMS	Да	76	3,7	1	2	6	Z = -2,041		0,041*
	Не	64	3,4	0,8	2	5			
$NIBUT_{AV}$, s	Да	76	13,51	6,65	2,61	25,0	-0,554	138	0,420
	Не	64	12,88	6,76	0	25,0			
$NIBUT_1$, s	Да	76	9,04	6,83	0	25	Z = -0,904		0,366*
	Не	64	10,0	7,03	2,17	25			
LTMH, mm	Да	76	0,30	0,13	0,08	1,0	2,578	138	0,011
	Не	64	0,36	0,12	0,00	0,78			
RI	Да	76	1,7	0,7	0	3,3	-0,196	138	0,845
	Не	64	1,6	0,7	0	3,3			

В настоящото проучване се установяват по-високи статистически значими стойности за тоталния meiboscore при използване на простагландинови аналози (табл. 26). Наличието на бета-блокери също се асоциира по-високи стойности на TMS, но разликата не е статистически значима. Аналогични данни са представени и други колективи [Arita et al., 2012]. Най-вероятният механизъм, стоящ зад тази промяна е свързан с увеличаване на мастоцитите, които медиат алергични реакции, както и хронично възпаление, водещо до стаза на мейбум и кератинизация на мейбомиевите жлези [Arita et al., 2012]. Приложението на бета-блокери се свързва с известен локален анестетичен ефект (мембранно-стабилизиращ ефект), поради което се наблюдава намалена рефлекторна секреция [Inoue, 2014]. Това обяснява в известна степен наблюдаваната по-ниска средна стойност на резултатите от Ширмер теста при наличие на бета-блокери в колирите

(табл. 27). Сходни резултати по отношение на влиянието на бета-блокери върху слъзните жлези е установено в литературата [Arita et al., 2012].

Табл. 27 Влияние на съдържанието на бета блокери в колирите върху показателите, описващи очната повърхност.

Показател	β	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Да	47	6,39	4,37	1	18,0	1,950	133	0,050
	Не	88	8,12	5,75	0	20,0			
UMGL, %	Да	47	36,71	18,08	3,96	89,80	-4,512	133	<0,001
	Не	88	27,02	16,35	7,15	88,39			
LMGL, %	Да	47	48,94	16,16	11,28	100	1,639	133	0,103
	Не	88	44,0	19,49	12,34	100			
TMS	Да	47	3,5	1,0	2	6	Z = -1,387		0,165*
	Не	88	3,6	0,84	2	6			
NIBUT ₁ , s	Да	47	8,92	6,95	0	25	Z = -0,408		0,683*
	Не	88	10,1	6,91	2,17	25,0			
NIBUT _{AV} , s	Да	47	12,28	6,98	2,47	25,0	1,543	133	0,125
	Не	88	14,02	6,37	0	25,0			
LTMH, mm	Да	47	0,31	0,10	0,14	1,0	-1,197	133	0,234
	Не	88	0,34	0,15	0	0,52			
RI	Да	47	1,7	0,7	0	3,3	-0,321	133	0,749
	Не	88	1,6	0,7	0	3,3			

В настоящата работа карбоанхидразните инхибитори показват най-изразен негативен ефект върху състоянието на очната повърхност (табл. 28). При тях се наблюдава значима разлика по отношение на ST, LTMH, UMGL и NIBUT_{AV}. Изглежда, че САИ засягат както водната, така и липидната фаза на сълзите.

Според Chen и сътр. [2015] наличието на карбоанхидразни инхибитори е свързано с 1,73 пъти (95% доверителен интервал 1,52-1,97) увеличаване на вероятността от проява на сухо око при глаукома. Причина за наблюдаваните различия е възможно да се дължи на факта, че колирите, съдържащи карбоанхидразни инхибитори, са под формата на суспензии (прилож. 2). Това обуславя известно иритативно действие върху очната повърхност, особено при хронично приложение. Освен това тези колири задължително съдържат консервант- най-често бензалкониев хлорид. Вероятно затова в литературата не се откриват данни относно въздействието на самите лекарствени вещества от тази група.

Табл. 28 Влияние на съдържанието на карбоанхидразни инхибитори в колирите върху показателите, описващи очната повърхност.

Показател	CAI	N	Mean	SD	Min	Max	t	df	p
ST, mm	Да	47	6,08	4,69	0	20,0	2,007	133	0,047
	Не	92	7,94	5,36	0	20,0			
UMGL, %	Да	47	37,11	19,90	3,96	89,80	-3,785	134	<0,001
	Не	88	27,66	16,29	7,15	88,39			
LMGL, %	Да	47	48,68	17,21	11,28	88,93	1,847	138	0,067
	Не	92	42,86	18,66	12,89	100			
TMS	Да	48	3,5	0,9	2	5	Z = -0,093		0,926*
	Не	92	3,6	0,9	2	6			
NIBUT ₁ , s	Да	48	7,92	5,78	0	25,0	Z = -1,875		0,061
	Не	92	10,42	7,35	2,29	25,0			
NIBUT _{Av} , s	Да	92	11,79	6,17	0	25,0	1,962	138	0,05
	Не	47	14,10	6,73	2,61	25,0			
LTMH, mm	Да	51	0,31	0,1	0	1	-2,801	138	0,006
	Не	88	0,37	0,15	0,08	0,52			
RI	Да	47	1,6	0,8	0	3,3	0,316	134	0,752
	Не	88	1,7	0,6	0	3,3			

По отношение на алфа агонистите не е установена никаква значима разлика в състоянието на очната повърхност. Подобни данни за минимален риск от развитие на сухо око при приложение на бримонидин се откриват в литературата [Chen et al., 2015].

6. Резултати и обсъждане по Задача 6:

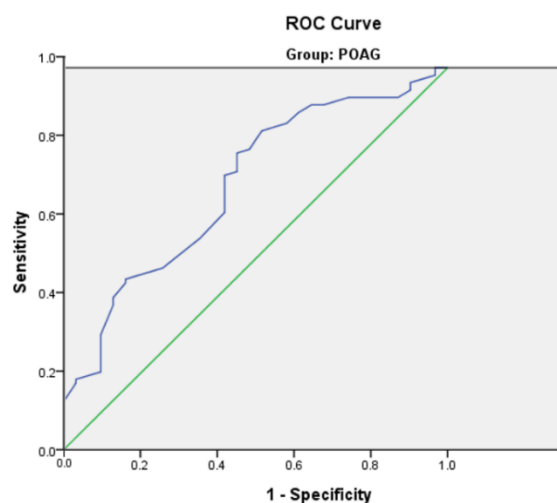
Определяне диагностичните възможности на обективните методи за изследване на сухо око при пациенти с глаукома (TMS; MGL; NIBUT; ST; LTMH).

Оценка на възможността на обективните методи да се използват за диагностициране и прогнозиране на проявата на сухо око при пациенти с глаукома е извършено с помощта на ROC анализ.

Табл. 29 AUROC анализ за диагностичните възможности на изследваните показатели за водно дефицитна форма на сухо око.

Група	Показател	AUC	SE	p	95% CI	
ЗК	LTMH	0,575	0,050	0,001	0,587	0,797
ПОЪГ	LTMH	0,692	0,054	0,133	0,477	0,673

При водно-дефицитната форма на синдрома се наблюдава намалена слъзна секреция. Като стандарт за оценката ѝ се използва Ширмер тестът [Schirmer, 1903]. В настоящето проучване е оценена възможността за използване на неинвазивния тест менискометрия чрез корнеален кератограф за отдиференциране на водно-дефицитна форма на сухо око. Като гранични референтни стойности за наличие на синдрома са приети $ST \leq 10$ mm [Jones et al., 1966; Li et al., 2012]. До момента в литературата не се установява изследване на диагностичните способности на обективни неинвазивни тестове за оценка на очната повърхност и по-специално на водно-дефицитна форма при глаукомно болни пациенти. В настоящата работа се установи значима диагностична и прогностична роля на LTMH в групата на ПОЪГ (табл. 29).



Фиг. 25 ROC крива за диагностичните способности на LTMH в ПОЪГ групата.

В групата на здравите доброволци не се наблюдава статистически значима способност за отдиференциране на двете състояния с помощта на LTMH самостоятелно. Докато при *cut-off* стойност на LTMH 0,35 mm в ПОЪГ групата се постига чевствителност от 71,8% и специфичност 58,1% (фиг. 25).

По-високата стойност, която се наблюдава като гранична при наличие на глаукома сред изследваните индивиди, може да се обясни с прилаганите от тях колири за локална терапия. Тези лекарствени форми се прилагат най-малко веднъж дневно без прекъсване, което доставя водна среда до очната повърхност. Менискометрията в настоящето проучване е проведена без оглед на точно опеделен времеви интервал след приложение на колирите. Затова съществува вероятност слъзният мениск да показва по-високи стойности. Следователно при пациенти с ПОЪГ водно-дефицитна форма на сухо око би могла да се очаква при по-високи стойности на LTMH. Независимо от това менискометрията позволява бързо, рутинно и неинвазивно оценяване на очна сухота при глаукомно болни.

Табл. 30 AUROC анализ за диагностичните възможности на изследваните показатели за евапоративна форма на сухо око.

Група	Показател	AUC	SE	p	95% CI	
Здрави	TMS	0,664	0,043	<0,001	0,580	0,749
	UMGL, %	0,593	0,045	0,045	0,504	0,681
	LMGL, %	0,708	0,041	<0,001	0,628	0,789
ПОЪГ	TMS	0,603	0,048	0,037	0,509	0,696
	UMGL, %	0,608	0,048	0,029	0,515	0,701
	LMGL, %	0,553	0,049	0,287	0,456	0,649

В настоящето проучване ненвазивното време за разкъсване на сухо око показва независимост от пола и възрастта на пациентите. Не се установява и влияние на хормоналния статус върху този показател. Според заложените в настоящата работа критерии е установена значително по-висока честота на разпространение на евапоративната (11%) и смесената форма (38,6%) на сухо око. Освен това наблюдаваните различия в стойностите на $NIBUT_{AV}$ между групата на ЗК и ПОЪГ са статистически значими. Всичко това дава основание да се счита, че показателят $NIBUT_{AV}$ може да се използва за адекватно отдиференциране на здрава очна повърхност от сухо око при пациенти с глаукома. Като оптимална *cut-off* стойност според литературни данни за $NIBUT_{AV}$ се счита 14s [Wiedemann et al., 2010]. В проучването $NIBUT_{AV}$ се използва като референтен метод за провеждане на ROC анализ и оценка на

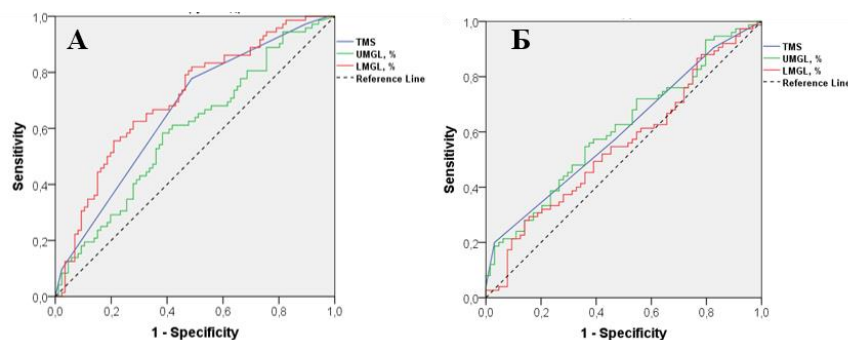
диагностичните и прогностични способности на останалите параметри. Тъй като неинвазивното време за разкъсване на слъзния филм би могло да се повлияе от условията на микроклимата [Alves et al., 2014] и да доведе до неточно диагностициране в клиничната практика, настоящата работа изследва трайни фактори, асоциирани с него, като липсата на мейбомиеви жлези, с цел по-точна диагностика. Получените резултати са представени в табл. 30.

В групата на ЗК значима диагностична способност се наблюдава за загубата на жлези както на горен, така и на долен клепач и на тоталния *meiboscore*. В групата на здравите контроли TMS показва 77,8% чувствителност и 51,2% специфичност (табл. 31).

Табл. 31 Чувствителност и специфичност на изследваните показатели

Група	Показател	Cut-off	Sensitivity	Specificity
Здрави	TMS	3,50	0,778	0,512
	UMGL, %	32,06	0,611	0,581
	LMGL, %	36,61	0,667	0,651
ПОЪГ	TMS	2,50	0,573	0,531
	UMGL, %	19,41	0,600	0,547

При глаукомно болните TMS запазва близка диагностична способност с чувствителност 57,3% и специфичност 53,1%. Загубата на мейбомиеви жлези на горен клепач при здрави и глаукомно болни е със сравними диагностични възможности. Наблюдават се по-ниски *cut-off* стойности за TMS и UMGL в групата на ПОЪГ, което говори за по-изразеното влияние на мейбомиевите жлези по отношение възникване на евапоративна форма на сухо око при тези пациенти. До момента в литературата не се откриват гранични стойности за норма и патология за загубата на жлези на всеки от клепачите поотделно. Но получените в настоящето изследване *cut-off* стойности за TMS са сходни на публикувани от други колективи ($TMS \geq 3$ за поява на сухо око) [Arita et al., 2009].



Фиг. 26 ROC крива в групата на здравите контроли (А) и ПОЪГ пациентите (Б) по отношение на показателите загуба на мейбомиеви жлези на горен клепач (UMGL), на долен клепач (LMGL) и тотален *meiboscore* (TMS).

Получените резултати по отношение на диагностичните и прогностични възможности на обективните показатели показват още веднъж комплексността на оценката на очната повърхност. В крайна сметка се оказва от съществено значение прилагането на повече от един тест за точно охарактеризиране на състоянието. При наличие на съпътстващо очно заболяване като ПОЪГ например се наблюдава известна промяна в граничните стойности. Това налага обстойно и широкомащабно изследване за определяне на най-прецизните възможни гранични стойности.

VI. Обобщение

Очната повърхност, макар и лесно достъпна, е изключително сложна за изследване поради значителното ѝ повлияване от фактори на околната среда, особености на диагностичните методи и критерий за интерпретация на получените данни. Липсата на един единствен клиничен показател за отидиференциране на сухо око от нормално състояние изисква използването на комбинация от методи, проведени при строго определена последователност поради взаимното им влияние.

В настоящето обзervationно проучване са изследвани 251 индивиди, преминали през Очна клиника на УМБАЛ „Александровска“ за периода от януари 2016г. до септември 2017г. Състоянието на очната им повърхност е изследвано с помощта на обективни методи като за първи път в България е приложена инфрачервена мейбография за охарактеризиране на мейбомиевите жлези. Оцени се честотата на разпространение на сухо око сред изследваните индивиди и особеностите на показателите при двата пола. Освен това е разгледано влиянието на ПОЪГ и нейното лечение в контекста на развитие на евапоративно и водно-дефицитно увреждане на очната повърхност. Установи се асоциация на глаукомата със синдрома сухо око в 54,4% от случаите. Разгледа се настоящата практика по отношение локалното консервативно лечение на ПОЪГ и се оцени въздействието на лекарствените вещества от различни групи върху очната повърхност. Наблюдават се нови зависимости по отношение на влиянието на карбоанхидразни инхибитори върху нея. Възможността за използване на различните обективни показатели за диагностика на синдрома сухо при глаукома също е оценена.

В заключение на направените изследвания и получените резултати се потвърди връзката между двете нозологични единици сухо око и глаукома сред част от българското население. Доказа се комплексността на проблема както по отношение на методологията за диагностика, така и по отношение изясняване на причините, на които се дължи. Показа се също необходимостта от въвеждане на неинвазивен рутинен подход за оценка състоянието на очната повърхност при пациенти с ПОЪГ поради важноста ѝ с цел повишаване на комплайънса с антиглаукомната терапия и подобряване качеството на живот на пациентите.

VII. Изводи

1. Очната повърхност на 251 човека е изследвана и охарактеризирана чрез обективните показатели NIBUT; TMS; MGL; LTMH; RI; ST. От тях 2,3% имат сухо око при средна възраст $58,5 \pm 16$ г. Всички изследвани показатели на очната повърхност се влошават с напредване на възрастта.
2. Пациентите с ПОЪГ се характеризират с влошено състояние на очната повърхност. От тях 54,4 % имат сухо око на базата на обективни критерии.
3. Полът влияе върху състоянието на очната повърхност, като за жените е са характерни и двете форми на сухо око, докато при мъжете преобладава евапоративната. ПОЪГ оказва негативно влияние върху обективните показатели както при мъжете, така и при жените в пре- и пост-менопаузална възраст.
4. Значими корелационни зависимости са установени между повечето изследвани показатели сред ЗК. В групата с ПОЪГ се наблюдават известни изменения, дължащи се на допълнителни фактори, свързани със заболяването.
5. Антиглаукомната терапия е основен рисков фактор за развитие на сухо око като нейната продължителност и броят на използваните медикаменти влияят върху загубата на мейбомиеви жлези на долен клепач и TMS. Наличието на CAI, PG, β -блокери води до значима загуба на мейбомиеви жлези при глаукомно болните.
6. Показателите NIBUT, TMS, UMGL и LTMH са с максимални диагностични способности за сухо око при пациенти с глаукома.

VIII. Приноси

1. Приноси с научно-теоретичен характер

1. Извърши се детайлно обхващане и разглеждане на научната информация по отношение механизма, патогенезата и факторите, влияещи за развитие на синдрома Сухо око.
2. Направи се детайлен литературен обзор на синдрома на сухо око и връзката му с глаукома.
3. Разгледаха се детайлно и критично обективните методи за изследване и диагностика на очната повърхност.

2. Приноси с научно-приложен характер

1. За първи път в България беше използвана неинвазивна ИЧ мейбография за определяне на загубата на мейбомиеви жлези и изчисляване на тотален *meiboscore*.
2. Оцени се обективно асоциацията между сухо око и глаукома сред често от българската популации като се дефинира честотата на различните форми на сухо око при пациенти с ПОЪГ.
3. Установиха се диагностичните способности на обективните показатели NIBUT, TMS, MGL, LTMH за сухо око при пациенти с глаукома.
4. Изследва се и се оцени влиянието на пола и възрастта върху обективните показатели, характеризиращи състоянието на очната повърхност при глаукомно болни.
5. За първи път се извърши корелационен анализ на централната роговична дебелина и обективните показатели за диагностика на сухо око.

3. Приноси с потвърдителен характер

1. Потвърди се комплексността при обективното изследване на очната повърхност с оглед влиянието на множество фактори.
2. Потвърди се влиянието на загубата на мейбомиеви жлези във влошаване симптоматиката и обективните показатели за сухо око при пациентите с глаукома.
3. Потвърди се влиянието на антиглаукомната консервативна терапия (състав и продължителност) върху състоянието на очната повърхност.
4. Потвърди се влиянието на пола и възрастта върху състоянието на очната повърхност.

IX. Научна активност

1. Публикации

1. **Василев, А.**, Чернодринска, В., Костова, Ст., Славкова, М., Здравков, Я. (2017) Обективно определяне процентната липса на мейбомиеви жлези и изследване наличието на корелационна зависимост с времето на разкъсване на слъзния филм, измерено чрез корнеален топограф OCULUS Keratograph 5m. Български офталмологичен преглед
2. **Василев, А.**, Костова, Ст., Здравков, Я. Славкова, М. (2017) Съвременна аспекти и значение на лекарствените продукти в развитието и терапията на сухо око при пациенти с глаукома. Глаукоми VI (1), 26-33
3. Mihaylova, B., **Vassilev, A.**, Dimitrova, G., Petkova, I., Ivanova, S., Oscar, A. (2018) The prognostic importance of endothelin-1 and endothelin-A plasma levels in early perimetric stage of primary open- angle glaucoma. Biotechnology & Biotechnological Equipment (in print; **IF 1.059**)

2. Участия в конгреси

1. **Василев, А.** Обективна оценка на състоянието на очната повърхност при здрави доброволци и пациенти с глаукома с помощта на корнеален кератограф Oculus 5M. Сравнително проучване. XVII симпозиум на Българско глаукомно дружество, 16-17 март 2018г. Гр. София (*орален доклад*);
2. Михайлова, Б., **Василев, А.**, Димитрова, Г., Ранкова-Йотова, Ч., Костова, Ст. Прогностично значение на плазмените нива на ендотелин 1 и ендотелинов рецептор А за ранен стадий на първична откритоъгълна глаукома. XVII симпозиум на Българско глаукомно дружество, 16-17 март 2018г. Гр. София (*орален доклад*);
3. **Василев, А.** Влияние на антиглаукомната терапия върху обективните критерии за оценка на сухо око 19-22.10.2017 София; Конгрес на Българското дружество по офталмология (*орален доклад*)
4. Чернодринска, В., **Василев, А.**, Петкова, И. Съвременни тенденции при методите за диагностика, стадиране и проследяване на пациенти със сухо око. Новости в офталмологията 27-29.11. 2015г. Правец (*орален доклад*)
5. **Василев, А.** Обективно определяне процентната липса на мейбомиеви жлези и изследване наличието на корелационна зависимост с времето на разкъсване на слъзния филм, измерено чрез корнеален топограф OCULUS Keratograph 5m. Новости в офталмологията 02-04.12.2016 Правец (*орален доклад*)

X. Приложения

Приложение 1а Основни течни лекарствени продукти и медицински изделия за лечение на сухо око, достъпни на българския пазар.

Търговски продукт	Активна съставка/ концентрация	Консервант	Други ПВ
Artelac® triple action	0,24% натриев хиалуронат, карбомер, глицерол и липиден компонент	-	NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ , NaEDTA, sorbitol, water
Xiloial®	TS-полизахарид 0,2%; Натриев хиалуронат	-	Mannitol, NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ , water
Tears Naturale II®	Декстран 0,1%; Хипромелоза 0,3%	ВАК	Na ₂ EDTA, NaCl, KCl, NaOH, HCl, water
Viscoblast®	Карбоксиметилцелулоза 0,5%	-	Na-hydroxymethylglycinate 0,001%, EDTANa, buffer
Cationorm®	Катионна наноемулсия	Цеталкониев хлорид	mineral oil, glycerol, tiloxapol, Poloxamer 188, tris-hydrochloride, thrometamine, water
Systane nighttime ointment®	Минерално масло 3%, Бял парафин 94%	-	Anhydrous lanolin
Vismed light®	Натриев хиалуронат 0,1%	Polyhexanide	NaCl, NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ , water, EDTANa,
Hyabak®	Натриев хиалуронат 0,15%	-	NaCl, Actinochinol, Trometamol, HCl, water
Vismed mono®	Натриев хиалуронат 0,18%	-	NaCl, KCl, Na ₂ HPO ₄ , Na citrate, MgCl ₂ , CaCl ₂ , water, hypotonic
Oxibio®	Натриев хиалуронат 0,2%	-	NaCl, NaH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ , water
Optive®	Натриева карбоксиметилцелулоза	Purite	Glycerine, Levocarnitine, erytritol,
Refresh®	Поливинил алкохол 1,4%; повидон 0,6%	-	NaCl, NaOH, HCl, water
Systane ultra mono®	Полиетилен гликол 400 0,4%; Пропиленгликол 0,3%	Polyquad 0,001%	Aminomethylpropanol, boric acid, hydroxypropyl guar, KCl, NaCl, water, HCl, NaOH
Systane ultra®	Полиетилен гликол 400 0,4%; Пропиленгликол 0,3%	Polyquad 0.001%	Aminomethylpropanol, boric acid, hydroxypropyl guar, KCl, NaCl, water, HCl, NaOH

Systane®	Полиетилен гликол 400 0,4%; Пропиленгликол 0,3%	Polyquad	Boric acid, CaCl ₂ , hydroxypropyl guar, MgCl ₂ , KCl, NaCl, ZnCl ₂ , water, HCl, NaOH
Systane Balance®	Пропиленгликол 0,6%	Polyquad 0,001%	boric acid, dimyristoyl phosphatidylglycerol, EDTANa, hydroxypropyl guar, mineral oil, polyoxyl 40 stearate, sorbitan tristearate, sorbitol, water, HCl, NaOH
Tears again®	Соев лецитин 1%; витамин А 0,025%; витамин Е 0,002%	-	NaCl, ethanol, phenoxyethanol
Thealoz duo®	Трехалоза 3%, Натриев хиалуронат 0,15%	-	NaCl, trometamol, HCl, water
Crystal vision®	Хипромелоза 0,3%	-	NaCl, KCl, boric acid, Na perborate, HCl, diethylene pentamethyl phosphonic acid, water
Artelac®	Хипромелоза 0,32%	Cetrimide	NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , NaEDTA, sorbitol, water
Ocucel®	Хипромелоза 0,5%	ВАС 50% 0,2mg	NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , water

Приложение 16 Основни полутвърди лекарствени продукти и медицински изделия, достъпни на българския пазар. за лечение на сухо око и произтичащите от него усложнения.

Търговски продукт	Активна съставка/ концентрация	Консервант	Други ПВ
Corneregel®	Декспантенол 5%	Cetrimide	EDTANa, carbomer, NaOH, water
Oftagel®	Карбомер 0,25%	ВАС	sorbitol, lysine monohydrate, Na acetate, PVA, water, NaCl
Solcoseryl gel®	Депротеинизиран хемолizat от телешка кръв 0,83%	ВАС 0,01%	EDTANa, sorbitol, water
Systane gel®	Хипромелоза 0,3%	-	Carbolpol 980, phosphoric acid, water, sodium perborate, sorbitol
Thealoz duo gel®	Трехалоза 3%; Натриев хиалуронат 0,15%	-	Carbomer 974P, Sorbitol, NaOH, water
Vidisic®	Карбомер 0,20%	Cetrimide,	NaOH, sorbitol, water for injections
Vismed gel®	Натриев хиалуронат 0,3%	-	NaCl, KCl, Na ₂ HP0 ₄ , Na citrate, MgCl ₂ , CaCl ₂ . water, hypotonic

Приложение 2 Основни антиглаукомни медикаменти, достъпни на българския пазар.
(ЛВ- лекарствено вещество; ПВ- помощно вещество)

Търговски продукт	ЛВ/ концентрация	Консерванти	Други ПВ
Lumigan®	Bimatoprost 0,1- 0,3 mg/ml	БАК 0,2mg/ml	Na ₂ HP0 ₄ , NaCl, лимонена киселина
Vizibim®	Bimatoprost 0,3 mg/ml	-	Na ₂ HP0 ₄ , NaCl, лимонена киселина
Luxfen®	Brimonidine tartrate 2 mg/ml	БАК	PVA, NaCl, Na citrate, citric acid
Simbrinza®	Brinzolamide 10mg/ml Brimonidine tartrate 2mg/ml	БАК	PG, Carbomer 974P, Boric acid, mannitol, NaCl
Azarga®	Brinzolamide 10mg/ml Timolol 5mg/ml	БАК 0,1mg/ml	Mannitol, Carbopol 974P, Tyloxapol, Na ₂ EDTA, NaCl
Azopt®	Brinzolamide 10mg/ml	БАК	Mannitol, Carbomer 974P, Tyloxapol, NaEDTA, NaCl
Brizadopt®	Brinzolamide 10mg/ml	БАК 0,15mg/ml	Mannitol, Carbomer 974P, NaEDTA, NaCl
Oftidorix®	Dorzolamdie 20mg/ml Timolol maleate 5mg/ml	БАК	Mannitol, Hydroxyethyl cellulose, Na citrate,
Oftidorix PF®	Dorzolamdie 20mg/ml Timolol maleate 5mg/ml	-	Mannitol, Hydroxyethyl cellulose, Na citrate,
Cosopt®	Dorzolamdie 20mg/ml Timolol maleate 5mg/ml	БАК 0,0075%	HEC, Na citrate, mannitol
Trusopt®	Dorzolamide 20mg/ml	БАК	HEC, Na citrate
Unilat®	Latanoprost 50 µg/ml	БАК	NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄
Latalux®	Latanoprost 50 µg/ml	БАК	NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄
Timlatan®	Latanoprost 50 µg/ml Timolol maleate 5mg/ml	БАК	NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄
Xalacom®	Latanoprost 50 µg/ml Timolol maleate 5 mg/ml	БАК	NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄
Xalatan®	Latanoprost 50 µg/ml	БАК	NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , NaCl
Monoprost®	Latanoprost 50 µg/ml	-	Macrogoldlycerol hydroxystearat 40; Sorbitol, Carbomer 974P, Macrogol, Na ₂ EDTA, NaOH
Pilocarpine®	Pilocarpine.HCl 10mg/ml или 20mg/ml	Phenylmercury nitrate	Boric acid, Na tetraborate, NaCl, Phenylmercury nitrate

Fotil®	Pilocarpine.HCl 20mg/ml или 40mg/ml Timolol maleate 5mg/ml	БАК 0,1mg/ml	Citric acid, Na citrate, НРМС
Taflotan®	Tafluprost 15µg/ml	-	Glycerine, Na phosphate, NaEDTA, Polysorbate 80
Taptiqom	Tafluprost 15µg/ml Timolol maleate 5 mg/ml	-	Глицерол, Na ₂ HP0 ₄ , Polysorbate 80, Na ₂ EDTA
Geltim®	Timolol maleate 1mg/g	-	Sorbitol, PVA, Carbopol 974P, Na acetate, lysine monohydrate
Nyolol gel®	Timolol maleate 1mg/g	БАК	Sorbitol, PVA, Carbopol 974P, Na acetate, lysine monohydrate
Cusimolol®	Timolol maleate 2,5mg/ml	БАК	NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , NaCl
Oftan timolol®	Timolol maleate 2,5mg/ml или 5mg/ml	БАК 0,1mg/ml	NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , NaCl
Timoptic®	Timolol maleate 2,5mg/ml или 5mg/ml	БАК	NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , NaCl
DuoTrav®	Timolol maleate 5mg/ml Travoprost 40µg/ml	БАК 0,15mg/ml	Mannitol, Thrometamol, Boric acid, Na ₂ EDTA, PEO hydrogenated castor oil 40
Travatan®	Travoprost 40µg/ml	БАК	PEO, hydrogenated castor oil 40, Trometamol, Na ₂ EDTA, Boric acid, Mannitol
Vizitrav®	Travoprost 40µg/ml	-	Macrogoldlycerol hydroxystearat, Boric acid, Mannitol, NaCl, PEG

XI. Библиография

1. Василев, А., Костова, Ст., Здравков, Я., Славкова, М. (2017) Съвременни аспекти и значение на лекарствените продукти в развитието и терапията на сухо око при пациенти с глаукома. *Глаукоми* 6:26-33.
2. Групчева, Х. (2009) Контактните лещи- оптичен и протективен елемент на предната очна повърхност. Дисертационен труд.
3. Шандурков, И. (2011) Сухо око- диагностични методи и съвременни тенденции на лечение. СТЕНО, Варна.
4. Шандурков, И., (2010) Синдром на сухо око – диагностични възможности и съвременни тенденции на лечение. Дисертационен труд. София.
5. Шандурков, И., Василева, П. (2007) Сухо око - популационен скрининг на синдрома. *Български Офталмологичен преглед* 3:10-14.
6. Abelson, MB, Mroz, M, Rsner, SA, Dirks, MS, Hirabayashi, D. (2003). Multicenter open-label evaluation of hyperemia associated with use of bimatoprost in adults with open angle glaucoma or ocular hypertension. *Adv Ther* 20:1-13.
7. Ablamowicz, AF, Nichols, JJ, Nicholks, KK (2016). Association between serum levels of testosterone and estradiol with meiMeibomianand assessments in postmenopausal women. *Invet Ophtalmol Vis Sci* 57: 295-300.
8. Abusharha, AA, Pearce, EA. (2012). The effect of low humidity on the human tear film. *Cornea* 0:1-6.
9. Actis, A., Rolle, T. (2014). Ocular surface alterations and topical antiglaucomatous therapy: a review. *The Open Ophthalmology Journal* 8:67-72.
10. Agnifili, L., Fasanella, V., Costagliola, C., Ciabattoni, C., Mastropasqua, R., Frezzotti, P., Mastropasqua, L. (2013). In vivo confocal microscopy of Meibomian glands in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 97:343-349.
11. Akdemir, M.O., Kirgiz, A., Ayar, O., Kaldirim, H., Mert, M., Cabuk, K.S., Taskapili, M. (2016) The effect of pseudoexfoliation and pseudoexfoliation induced dry eye on central corneal thickness. *Current Eye Research*, 41(6) 305-310.
12. Ales, M, Novaes, P, Morraye, MA, Reinach, PS, Rocha, EM. (2014). Is dry eye an environmental disease? *Arq Bras Ophthalmol* 77:193-200.

13. Alestas, T, Ganceviciene, R, Fimmel, S, et al. (2006). Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B4 and prostaglandin E2 are active in sebaceous glands. *J Mol Med* 84:75-87.
14. Aptel, F., Baudouin, C., Bron, A., Lachkar, Y., Sellem, S., Renard, J-P., Nordmann, J-Ph., Rouland, J-Fr., Denis, Ph. (2014) Traitement du glaucome, conservateurs et surface oculaire. *Journal Français d'Ophtalmologie* 37:728-736.
15. Ariga, M., Nivean, M., Utkarsha, P. (2013) Pseudoexfoliation syndrome. *Journal of Current Glaucoma Practice* 7:118-120.
16. Arita, R., Fukuoka, S., Morishige, N. (2017). New insights into the morphology and function of Meibomian glands. *Experimental Eye research* 163:64-71.
17. Arita, R., Fukuoka, S., Morishige, N.(2017) *Experimental Eye Research*. New insights into the morphology and function of Meibomian glands 163:64-71.
18. Arita, R., Itoh, K., Inoue, K., Amano, S. (2008) Non-contact infrared meibography to document age related changes of the meibomian glands in normal population. *Ophthalmology* 115:911-915.
19. Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Amano, S. (2013). Newly developed noninvasive and mobile pen-shaped meibography system, *Cornea*, 32:242-247.
20. Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Fukuoka, S., Tomidokoro, A., Amano, S. (2009). Proposed diagnostic criteria for obstructive Meibomian gland dysfunction. *Ophthalmol.* 116:2058-2063.
21. Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Tomidokoro, A., Alhara, M., Amano, S. (2012a) Comparison of the long-term effects of various topical antiglaucoma medications on Meibomian glands. *Cornea* 31:1229-1234.
22. Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Tomidokoro, A., Alhara, M., Amano, S. (2012b). Effects of long-term topical anti-glaucoma medications on Meibomian glands. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 250:1181-1185.
23. Asbell, P.A., Stapleton, F.J., Wickström, Akpek, E.K., Aragona, P., Dana, R., Lemp, M.A., Nichols, K.K.(2011) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the clinical trial subcommittee. *Investigative Ophthalmology Visual Science* 52:2065-2085.
24. Bagnis, A., Papadia, M., Scotto, R., Traverso C., (2011) Antiglaucoma drugs: The role of preservative free formulations. *Saudi Journal of Ophthalmology* 25:389-394.
25. Ban, Y, Cooper, LJ, Fullwood, NJ, Nakamura, T, Tsuzuki, M, Koizumi, N, Dota, A, Mochida, C, Kinoshita, S. (2003). Comparison of ultrastructure, tight junction-related

- protein expression and barrier function of the human corneal epithelial cells cultivated on amniotic membrane with and without air-lifting. *Exper. Eye Res.* 76, 735-743.
26. Ban, Y., Shimazaki-Den, S., Tsubota, K., Shimazaki, J. (2013) Morphological evaluation of Meibomian glands using noncontact infrared meibography. *The Ocular Surface* 11: 47-53.
 27. Baudouin, C., Aragona, P., Messmer, E., Tomlinson, A., Calonge, M., Boboridis, K., Akova, Y., Geerling, G., Labetoulle, M., Rolando, M. (2013) Role of hyperosmolarity in the pathogenesis in management of dry eye disease: Proceedings of the OCEAN group meeting. *The Ocular Surface* 11: 246-258.
 28. Baudouin, C., Barton, K., Cucherat, M., Traverso, C. (2015). The measurement of bulbar hyperaemia: challenges and pitfalls. *Eur J Ophthalmol* 25(4):273-279.
 29. Baudouin, C., Labbé, A., Liang, H., Pauly, A., Brignole-Baudouin, F. (2010) Preservatives in eyedrops: The good, the bad and the ugly. *Progress in Retinal and Eye Research* 29:312-334.
 30. Baudouin, C., Messmer, E., Aragona, P., Geerling, G., Akova, YA., Benitez-del-Castillo, Boboridis, KG., Merayo-Llodes, J., Rolando, M., Labetoulle, M. (2016). Revisiting the vicious circle of dry eye disease: a focus on the pathophysiology of Meibomian gland dysfunction. *British Journal of Ophthalmology* 100:300-306.
 31. Baudouin, C., Renard, J-P., Nordmann, J-Ph., Denis, Ph., Lachkar, Y., Sellem, S., Jeanbat, V., Bouée, S., (2013a) Prevalence and risk factors for ocular surface disease among patients treated over the long term for glaucoma or ocular hypertension. *European Journal of Ophthalmology* 23:47-54.
 32. Baudouin, C., Traverso C., (2013b) The role of preservative free therapies in treatment of glaucoma. *European Ophthalmic Review* 7:74-80.
 33. BCSC (2017-2018) section 2 Fundamentals and principles of ophthalmology. Lacrimal gland and excretory system 28-29.
 34. Benitez-del-Castillo Sanchez, J. Morillo-Rojas, MD, Galbis-Estrada, C, Pinaza-Duran, MD (2017). Determination of immune response and inflammation mediators in tears: changes in dry eye and glaucoma as compared to healthy controls. *Arch Soc Esp Oftalmol* 92:210-217.
 35. Bertino FJ (2016). Eye and lacrimal apparatus in Bergmann's comprehensive encyclopedia of human anatomic variations, Tubbs, MR, Shoja, MM, Loukas, M. John Wiley & Sons.
 36. Best, N., Drury, L., Wolffsohn, J.S. (2012) Clinical evaluation of the Oculus Keratograph 35: 171-174.
 37. Biber, J.M. (2013) Classification of ocular surface disease. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 35-43.

38. Bizheva, K., Lee, P., Hutchings, N., Simpson, T. (2010). In vivo volumetric imaging of the human upper eyelid with ultrahighresolution optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics* 15:040508.
39. Bolaños-Jimenez, R, Navas, A, Lopez-Lizarraga, EP, March de Ribot, F, Peña, A, Graue-Hernandez, EO, Garfias, Y. (2015). Ocular surface as barrier of innate immunity. *Open Ophthalmol. J.* 9, 49-55.
40. Bron, A.J., Argüeso, P., Irkec. M.,Bright, F.V.,(2015) Clinical staining of the ocular surface: Michanisms and interpretations. *Progress in Retinal and Eye Research* 44:36-61.
41. Bron, A.J., Benjamin, L., Snibson, G.R. (1991) Meibomian gland disease. Classification and Grading of lid changes. *Eye* 5: 395-411.
42. Bron, A.J., de Paiva, C.S., Chauchan, S.K., Bonini, S., Gabisson, E.E., Jain, S., Knop, E., Markoulli, M., Ogawa, Y., Perez, V., Uchino, Y., Yokoi, N., Zoukhri, D., Sullivan, D. (2017). TFOS DEWS II pathophysiology report. *The ocular surface* 15:438-510.
43. Butovich, I. (2017). Meibomian glands, meibum, and meibogenesis. *Exp. Eye Res.* 163, 2-16.
44. Caffery, B., Richter. D., Simpson, T., Fonn, D., Doughty, M., Gordon, K., (1998) CANDEES, The Canadian dry eye epidemiology study, *Adv. Exp. Med. Biol.* 438; 805-806.
45. Celik, T., Lee, H.K., Petznick, A., Tong, L. (2013) Bioimage informatics approach to automated Meibomian gland analysis in infrared images of meibography. *Journal of Optometry* 6: 194-204.
46. Chang, M, Lee, H, Park, MS et al. (2014). The clinical characteristics and new classification of sticky eyelid syndrome in East Asian patients. *Acta ophthalol* 92:e667-e670.
47. Chen, H.Y., Lin, C.L., Tsai, y.Y., Kao, C.,H. (2015). Association between glaucoma medication usage and dry eye in Taiwan, *Optometry and vision science* 92:e227-232.
48. Chhadva, P., Goldhardt, R., Galor A. (2017) Meibomian Gland Disease. The role of gland dysfunction in dry eye disease. *Ophthalmology* 124:S20-S26.
49. Craig, J. Nichols, K., Akpek, E., Caffery, B., Dua, H.S., Joo, Ch.-Ki, Liu, Z., Nelson, J.D., Nichols, J.J., Tsubota, K., Stapleton, F. (2017). TFOS DEWS II Definition and classification report, *The ocular surface* 15:276-283.
50. Cvenkel, B., Stunf, S., Kirbis, I.S., Flezar, M.S. (2015). Symptoms and signs of ocular surface disease related to topical medication in patients with glaucoma. *Clinical Ophthalmology* 9:625-631.
51. Dalibon, P., (2014) Le glaucome à angle ouvert. *Actualités pharmaceutiques* 539:24-30.

52. Den, S., Shimizu, K., Ikeda, T., Tsubota, K., Shimmura, S., Shimazaki, J. (2006). Association between Meibomian gland changes and aging, sex, or tear function. *Cornea* 25:651-655.
53. Didem, S., Safak, K., Aysu, K., Gursoy, A. (2007). A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anaesthesia: eyes open or closed. *Cornea* 26:903-906.
54. Ding, J., Sullivan, D., (2012) Aging and dry eye disease. *Experimental Gerontology* 47:483-490.
55. Doughty, M.J., (2013) Rose Bengal staining as an assessment of ocular surface damage and recovery in dry eye disease- A review. *Contact Lens & Anterior Eye* 36:272-280.
56. Downie, LE., Keller, PR., Vingrys, AJ. (2015) Assessing ocular bulbar redness: a comparison of methods. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 36:132-139.
57. Eom, Y., Choi, K., Khang, S., Lee, HK., Kim, HM., Song, JS., (2014) Comparison of Meibomian gland loss and expressed meibum grade between the upper and lower eyelids in patients with obstructive Meibomian gland dysfunction. *Cornea* 33:448-452.
58. Eom, Y., Lee, J.-S., Kang, S.-Y., Kim, H.M., Song, J.-S. (2013) Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and Meibomian gland loss in patients with obstructive Meibomian gland dysfunction and normal controls. *American Journal of Ophthalmology* 155: 1104-1100.
59. Erb, C., Gast, U., Schremmer, D., (2008) German register for glaucoma patients with dry eye. I. Basic outcome with respect to dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 246: 1593-1601.
60. Erb, C., Geerlin, G., Grus, F., Jünemann, A., Kaercher, T., Kasper, K., Knop, E., Knop, N., Lanzl, I., Messmer, E., Schirra, F., Schötzer-Schrehardt, U., Seitz, B. (2012) Glaucoma and dry eye.
61. European Glaucoma Society (EGS). *Terminology and Guidelines for Glaucoma*. 4th Edition, (2014).
62. Eysteinnsson T., Jonasson, F., Sasaki, H., Arnarsson, A., Sverrisson, T. et al. (2002). Central corneal thickness, radius of the corneal curvature and intraocular pressure in normal subjects using non-contact techniques: Reykjavik eye Study. *Acta Ophthalmol scand* 80:11-15.
63. Farrand, K.F., Fridman, M., Stillman, I.Ö., Schaumberg, D.A. (2017) Prevalence of diagnosed dry eye disease in the United States among adults aged 18 years old and older. *American Journal of Ophthalmology* 182:90-98.

64. Feng, Y., Feng, G., Peng, S., Li, H. (2016). The effects of hormone replacement therapy on dry eye syndromes evaluated by Schirmer test depend on patient age. *Contact Lens and Anterior Eye* 39:124-127.
65. Feng, Y., Gao, Z., Feng, K., Qu, H., Hong, J. (2014). Meibomian glands drop out in patients with dry eye disease in China. *Curr Eye Res* 39:965-972.
66. Finis, D., Ackermann, P., Pischel, N., König, C., Hayajneh, J., Borrelli M., Schrader, S., Geerling, G. (2015). Evaluation of Meibomian gland dysfunction and local distribution of Meibomian gland atrophy by non-contact infrared meibography. *Curr Eye Res* 40:982-989.
67. Fiona, S., Garrett, Q., Chan, C., Craig, G.P., (2015) The epidemiology of dry eye disease. *Essentials in ophthalmology*.
68. Fischer, FP. (1928). Über die Darstellung der Hornhaut oberfläche und ihrer Veränderung im Reflexbild. *Suppl. to Arch. Augenheilk.* 98, Bergman, München.
69. Foster, J.B., Lee, B. (2013) The tear film anatomy structure and function. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 17-21.
70. Foulks, G.N. (2013) Meibomian gland disease: Treatment. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 67-76.
71. Foulks, G.N., Bron, A.J. (2003) Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *The Ocular Surface* 1: 107-126.
72. Fraunfelder, FT., Sciubba, JJ., Mathers, WD. (2012). The role of medications in causing dry eye. *J Ophthalmol* 2012, 8p.
73. Freeman, P.D., Kahook, M.Y., (2009) Preservatives in topical medications: historical and clinical perspectives. *Expert Rev. Ophthalmology* 4:59-64.
74. Galor A., Feuer, W., Lee, D.J., Florez, H., Carter, D., Pouyeh, B. et al. (2011). Prevalence and risk factors of dry eye syndrome in a United States veterans affairs population. *American Journal of Ophthalmology* 152:377 e2-84 e2.
75. García- Porta, N., Mann, A., Sáez-Martínez, V., Franklin, V., Wolffsohn, J.S., Tighe, B. (2017). *Contact Lens & Anterior Eye* xxx:xxx-xxx.
76. Garza-Leon, M., Ramos-Betancourt, N., de la Vega, F.B-D., Hernandez-Quintela, E. (2017). Meibography. A new technology for the evaluation of Meibomian glands. *Revista Mexicana de Oftalmología* 4:165-171.
77. Geerling, G, Tauber, J, Baudouin, C et al. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: report on the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:2050-2064.

78. Giménez-Gómez, R., García-Catalán., M.R., Gallardo-Galera, J.M., (2013) Tear clearance and ocular symptoms in patients treated with preservative-free prostaglandins. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología* 88:88-91.
79. Gipson, IK, Spurr-Michaud, S, Tisdale, A, Menon, BB. (2014). Comparison of the transmembrane mucins MUC1 and MUC16 in epithelial barrier function. *PLOS ONE* 9(6): e100393.
80. Gomes, J.A., Azar, D.T., Baudouin, C., Efron, N., Hirayama, M., Horwath-Winter, J., Kim, T., Mehta, J.S., Messmer, E.M., Pepose, J.S., Sangwan, V.S., Weiner, A.L., Wilson, S.E., Wolffsohn, J.S. (2017). TFOS DEWS II iatrogenic report. *The ocular surface* 15:516-543.
81. Gonzalez-Garcia, MJ, Gonzalez-Saiz, A, de la Fuente, B, Morilla-Grasa, A, Mayo-Iscar, A, San-Jose, J, Feijo, J, Stern, ME, Calogne, M. (2007). Exposure to controlled adverse environment impairs the ocular surface of subjects with minimally symptomatic dry eye. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 48(9):4026-4032.
82. Gordon, MO, Beiser, JA., Heuer, DK., Higginbotham, EJ., Johnson, CA., Keltner, JL., Parrish, RK., Wilson, MR., Kass, MA. (2002). The ocular hypertension treatment study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 120(6):714-720.
83. Green-Church, K.B., Butovich, I., Willcox, M., Borchman, D., Paulsen, F., Barabino, S., Glasgow, B.J. (2011) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Investigative Ophthalmology Visual Science* 52:1979-1993.
84. Guillemin, I., Begley, C., Chalmers, R., Baudouin, C., Arnould, B. (2012). Appraisal of patient-reported outcome instruments available for randomized clinical trials in dry eye: revisiting the standards. *The Ocular Surface* 10:84-99.
85. Guillon, M., Maissa, C. (2010). Tear film evaporation-effect of age and gender. *Contact lens and anterior eye* 33:171-175.
86. Han, KE., Yoon, SC., Ahn, JM., Nam, SM., Stulting, RD., Kim, EK., Seo, KY. (2014). Evaluation of dry eye and Meibomian gland dysfunction after cataract surgery. *Am J Ophthalmol.* 157:1144-1150.
87. Harvey, T.M., Alzaga Fernandez, A.G., Patel, R, Goldman, D., Ciralsky, J. (2013) Conjunctival anatomy and physiology. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 23-27.

88. Hegab, S.M., Sheriff, S.M., el-Aasar, E.S., Lashin, E.A., Phillips, C.I. (1991). Congenital alacrima without associated manifestations (AD). An affected father and son. *Ophthalmic Paediatric Genetic* 12:161-163.
89. Hoffmann, EM., Lamparter, J., Mirshahi, A., Elflein, H., Hoehn R. et al. (2013). Distribution of central corneal thickness and its association with ocular parameters in a large central European cohort: the Gutenberg Health Study. *PLoS ONE* 8(8):e665158. doi:10.1371/journal.pone.0066158
90. Holly, FJ. (1985). Physical chemistry of the normal and disordered tear film, *Transactions of the Ophthalmological Societies of the United Kingdom*, 104:374–380.
91. Hong, J., Sun, X., Wei, A., Cui, X., Li, Y., Qian, T., Wang, W., Xu, J. (2013) Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratography. *Cornea* 32:716-721.
92. Hua, R., Yao, K., Hu, Y., Chen, L. (2014). *BMJ Open* 4(8):e005296.
93. Ibrahim, O.M., Dogru, M., Takano, Y., Satake, Y., Wakamatsu, T.H., Fukagawa, K., Tsubota, K., Fujishima, H. (2010) Application of visante optical coherence tomography tear meniscus height measurement in the diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmology* 117:1923-1929.
94. Iester, M., Telani, S., Frezzotti, P., Motolese, I., Figus, M., Fogagnolo, P., Perdicchi, A. (2014). Ocular surface changes in glaucomatous patients treated with and without preservatives beta-blockers. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 00:1-6.
95. Inoue, K (2014). Managing adverse effects of glaucoma medications. *Clin Ophthalmol* 8:903-913.
96. Isreb, MA, Greiner, JV, Korb, DR, Glonek, T, Mody, SS, Finnemore, VM, Reddy, CV. (2003). Correlation of lipid layer thickness measurements with fluorescein tear film break-up time and Schirmer's test. *Eye* 17:79-83.
97. Jaenen N, Baudouin C, Pouliquen P, Manni G, Figueiredo A, Zeyen T. (2007). Ocular symptoms and signs with preserved and preservative-free glaucoma medications. *European Journal of Ophthalmology*, 17:341-349.
98. Jandrokovic, S., Suic, SP., Kordic, R., Kuzman, T., Petricek, I. (2013). Tear film status in glaucoma patients. *Cell Antropol* 37:137-140.
99. Jeng, B.H. (2013) Diagnostic techniques in ocular surface disease. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 47-54.
100. Jeyalatha MV, Qu, Y, Liu, Z, Ou, S, He, X, Bu, J, Li, S, Reinach, PS, Liu, Z, Li, W (2017). Function of Meibomian gland: contribution of proteins. *Exp. Eye Res.* 163, 29-36.

101. Jones LT. (1966). The lacrimal secretory system and its treatment. *Am. J. Ophthalmol.* 62:47-60.
102. Jones, L., Downie, L.E., Korb, D., Benitez-del-Castillo, J.M., Dana, R., Deng, S.X., Seo, K.Y., Tauber, J., Wakamatsu, T.H., Jianjang, X., Wolffsohn, J.S., Craig, J. (2017). TFOS DEWS II Management and therapy report. *The Ocular surface* 15:580-634.
103. Kanellopoulos, A., J., Asimellis, G., (2014) In vivo 3-dimensional corneal epithelial thickness mapping as an indicator of dry eye: Preliminary clinical assessment. *American Journal of Ophthalmology* 157:63-68.
104. Kapetanakis, V., Chan, MPY., Foster, P., Cook, DG., Owen, CG., Rudnicka, AR. (2015). Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systemic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol* 100:86-93.
105. Karampatakis, V., Karamitsos, A., Skriapa, A., Pastiadis, G. (2010). Comparison between normal values of 2- and 5-minute Schirmer test without anesthesia. *Cornea* 29(5):497-501.
106. Knop, E, Knop, N. (2007). Anatomy and immunology of the ocular surface. *Chem. Immunol. Allergy* 92, 36-49.
107. Knop, E., Knop, N., Millar, T., Obata, H., Sullivan, D.A.(2011) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on anatomy, physiology and pathophysiology of the Meibomian gland. *Investigative Ophthalmology Visual Science* 52:1938-1977.
108. Koh, Y.W., Celik, T., Lee, H.K., Petznick, A., Tong, L. (2012) Detection of Meibomian glands and classification of meibography images. *Journal of Biomedical Optics* 17: 086008-1-7.
109. Komuro, A., Yokoi, N., Kinoshita, S., et al. (2002). Assessment of Meibomian gland function by a newly developed laser meibometer. *Adv Exp Med Biol* 506:517-520
110. Kumar, R., Pardesi, A. (2017). Assessment of age and gender related changes on tear production. *Int J Med Health Res* 3:32-34.
111. Kunert, K.S., Tisdale, A.S., Gispon, I.K. (2002). Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Archives of Ophthalmology*, 120:330-337.
112. Kurna, S.A., Acikgoz, S., Altun, A., Ozbay, N., Sengor, T., Olcaysu, O.O. (2014). The effects of topical antiglaucoma drugs as monotherapy on the ocular surface: a prospective study. *Journal of Ophthalmology* ID 460483; 8 pages.

113. Labbé, A., Baudouin, C., (2011) Le glaucome et la surface oculaire, un mariage difficile. *Le dossier glaucome* 1-5.
114. Lamberts, DW., Foster, CS., Perry, HD. (1979). Schirmer test after topical anesthesia and the tear meniscus height in normal eyes. *Acr Ophthalmol* 97:1082-1085.
115. Lee, A.J., Lee, SM., Saw, G., Gazzard, G., Koh, D., Widjaja, D., Tan, DT., (2002) Prevalence and risk factors associated with dry eye symptoms: the population based study in Indonesia, *British Journal of Ophthalmology*, 86:1347-1351.
116. Lee, KW., Kim, JY., Chin, HS., Seo, KY., Kim, T., Jung, KW. (2017). Assessment of the tear meniscus by strip meniscometry and keratograph in patients with dry eye disease according to the presence of meibomian gland dysfunction. *Cornea* 36:189-195.
117. Lemp, M. (1995). Report of the national eye institute/industry workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J.* 21:221-232
118. Lemp, M. (2013). Dry eye disease: Epidemiology and Pathophysiology. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 77-83.
119. Lemp, M.A., Baudouin, C., Baum, J., Dogru, M., Foulks, G., Kinoshita, S., Leibson, P., McCulley, J., Murube, J., Pflugfelder, S.C., Rolando, M., Toda, I. (2007). The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye workshop, *The ocular surface* 5:75-92.
120. Lemp, M.A., Bron, A.J., Baudouin, C., Benitez del Castillo, J.M., Geffen, D., Tauber, J., Foulks, G.N., Pepose, S., Sullivan, B.D. (2011) Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *American Journal of Ophthalmology* 151: 792-798
121. Lemp, M.A., Crews, L.A., Bron, A.J., Foulks, G.N., Sullivan, B.D. (2012). Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea* 31:472-478.
122. Leung EA, Medeiros FA, Weinreb RN. (2008). Prevalence of ocular surface disease in glaucoma patients. *Journal of Glaucoma*, 17:350-355.
123. Li, M., Zhao, J., Shen, Y., Li, T., He, L., Xu, H., Yu, Y., Zhou, X. (2013). Comparison of dry eye and corneal sensitivity between small incision lenticule extraction and femtosecond LASIK for myopia, *PLoS ONE* 8(10):e77797. doi:10.1371/journal.pone.0077797.
124. Lin, H., Yiu, S.C. (2014) Dry eye disease: a review of diagnostic approaches and treatments. *Saudi Journal of Ophthalmology* 28: 173-181.
125. Lin, PY., Tsai, SY., Cheng, CY., Liu, JH., Chou, P., Hsu, WM. (2003). Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan, *Ophthalmology* 110:1096-1101.

126. Linquist, T.D. (2010) Conjunctivitis: an overview and classification, Krachmer, J.H., Mannis, M.J., Holland, E.J. editors, Cornea, Philadelphia: Mousby Elsevier 509-520.
127. Lira, M, Oliveira, ME, Franco, S (2011). Comparison of the tear film clinical parameters at two different times of day. Clin Exp Optom 94: 557-562.
128. Machalinska, A., Zakrzewska, A., Safranow, K., Wiszniewska, B., Machalinski, B. (2016). Risk factors and symptoms of Meibomian gland loss in a healthy population. J. Ophthalmol. 2016:7526120, 8p.
129. Macsai. M., Mojica, G. (2013) Medical management of Ocular Surface Disease. In Ocular Surface Disease Elsevier Saunders 271-281.
130. Maïssa, C., Guillon, M., Simmons, P., Vehige, J. (2010) Effect of castor oil emulsion eyedrops on tear film composition and stability. Contact Lens & Anterior Eye 33: 76-82.
131. Martínez-Soroa, I., de Frutos-Lezaun, M., Ostra Beldarrain, M., Egía Zurutuza, A., Irastorza Larburu, M.B., Bachiller Cacho, M.P. (2016) Determination of phosphate concentration in glaucoma eye drops commercially available in Spain. Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología 91:363-371.
132. Mathews P.M., Ramulu, P.Y., Friedman, D.S., Utine, C.A., Akpek, E. (2013) Evaluation of ocular surface disease in patients with glaucoma. American Academy of Ophthalmology 120:2241-2248.
133. McGinnigle, S., Naroo, S.A., Eperjesi, F. (2012) Evaluation of dry eye. Survey of Ophthalmology 57: 293-316.
134. Mcmonnies, CW. (2018). Tear instability importance, mechanisms, validity and reliability of assessment. J. Optom., in press <https://doi.org/10.1016/j.optom.2017.11.004>
135. Meibom, H. (1666). De Vasis palpebrarum novis epistola. Hennigi Mulleri, Helmstadt, Germany.
136. Mengher, LS, Bron, AJ, Tonge, SR, Gilbert, DJ (1985). A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. Curr. Eye Res. 4, 1-7.
137. Mocan, M, Uzunosanoglu, E, Kocabeyoglu, S, Karakaya, J, irkec, M. (2016). The association of chronic topical prostaglandin analog use with Meibomian gland dysfunction. J Glaucoma 25:770-774.
138. Moss, S.E., Klein, R., Klein, BE. (2004). Incidence of dry eye in an older population, Archives of Ophthalmology, 122:369-373.
139. Murphy, PJ, Lau, JSC, SIM, MML, Woods, RL (2007). How red is a white eye? Clinical grading of normal conjunctival hyperaemia. Eye 21:633-638.
140. Murube, J. (2009). Basal, reflex and psycho-emotional tears, Ocul. Surf. 7(2), 60-66.

141. Napoli, P.E., Coronella, F., Satta, G.M., Lovino, C., Sanna, R., Fossarello, M. (2016) A simple novel technique of infrared meibography by means of spectral-domain optical coherence tomography: A cross sectional clinical study. PLOS ONE 1-14.
142. Nelson, J.D., Craig, J.P., Akpek, E.K., Azar, D.T., Belmonte, C., Bron, A.J., Clayton, J.A., Dogru, M., Dua, H.S., Foulks, G.N., Gomes, J.A.P., Hammit, K.M. et al. (2017). TFOS DEWS II Introduction. The Ocular surface 15: 269-275.
143. Nelson, J.D., Shimazaki, J., Benitez-del-Castillo, J.M., Craig, J.P., McCulley, J.P., Den, S., Foulks, G.N. (2011) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the definition and classification subcommittee. Investigative Ophthalmology Visual Science 52:1930-1937.
144. Nemesure, B., Wu, S.Y., Hennis, A., Leske, M.C. (2003). Corneal thickness and intraocular pressure in the Barbados eye studies. Arch Ophthalmol 121:240-244.
145. Ngo, W., Srinivasan, S., Jones, L. (2013). Historical overview of imaging the Meibomian glands. Journal of Optometry 6:1-8.
146. Nichols, J.J., Bernstein, D.A., Mitchell, G.L., Nichols, K.K. (2005). An assessment of grading scales for meibography images. Cornea 24:382-388.
147. Nichols, J.J., Wilcox, M.D., Bron, A.J., Belmonte, C., Ciolino, J.B., Craig, J.P., Dogru, M., Foulks, G.N., Jones, L., Nelson, D., Nichols, K.K., Purslow, C., Schaumberg, D.A., Stapleton, F., Sullivan, D.A. (2013) The TFOS international workshop on contact lens discomfort: executive summary. Investigative Ophthalmology and Visual Science 54:TFOS7-13.
148. Nichols, K.K. (2011a) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: introduction. Investigative Ophthalmology Visual Science 52: 1917-1921.
149. Nichols, K.K., Foulks, G.N., Bron, A.J., Glasgow, B.J., Dogru, M., Tsubota, K., Lemp, M.A., Sullivan, D.A. (2011b) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: executive summary. Investigative Ophthalmology Visual Science 52: 1922-1929.
150. Nissen, M.H., Röpke, C. (2005). Innate and adaptive immunity of the eye. Adv. Organ Biol. 10, 291-305.
151. Noecker, R., Miller, K.V. (2010) Benzalkonium chloride in glaucoma medications. The Ocular Surface 9:159-162.
152. Norn, M.S. (1969). Dessication of precorneal film. I. Corneal wetting time, Acta Ophthalmologica (Copenhagen) 47:865-880.
153. Norn, M.S. (1973). Lysamine green. Vital staining of cornea and conjunctiva. Acta Ophthalmologica (Copenhagen) 51:483-491.

154. Norn, MS (1969). Dessication of the precorneal film. *Acta Ophthalmol* 47, 865-880.
155. Oculus Optikgeräte GmbH. (2013). User guide- Oculus Keratograph 5M
156. Ozdemir, M., Temizdemir, H. (2010) Age- and gender-related tear function changes in normal population. *Eye* 24:79-83.
157. Patel, S., Farrell, J., Blades, K. et al. (1998) The value of a phenol red impregnated thread for differentiating between the aqueous and non- aqueous dry eye. *Ophthalmic physiology and optometry* 18:471-476.
158. Perez, VL., Pflugfelder, SC., Zhang, S., Shojaei, A., Haque R. (2016) Lifitegrast, a novel integrin antagonist for treatment of dry eye disease. *Ocular Surface* 14:207-215.
159. Pflugfelder, S.C., Tseng, S.C., Sanabria, O., Kell, H., Garcia, C.G., Felix, C., Feuer, W., Reis, B.L. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 17:38-56.
160. Pflugfelder, S., Baudouin, C. (2011). Challenges in the clinical measurement of ocular surface disease in glaucoma patients. *Clinical Ophthalmology* 5:1575-1583.
161. Pflugfelder, S.C., Nettune, G.R. (2013) Treatment of dry eye disease. In *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*, Elsevier Saunders 85-90.
162. Pflugfelder, S.C., S.de Paiva, C. (2017a) Pathophysiology of dry eye disease. What we know and future directions for research. *Ophthalmology* 124:S4-S13.
163. Pflugfelder, S.C., Tseng, S.C, Yoshino, K., Monroy, D., Felix, C., Reis, B.L. (1997). Correlation of goblet cell density and mucosal epithelial membrane mucin expression with rose Bengal staining in patients with ocular irritation, *Ophthalmology* 104:223-235.
164. Pflugfelder, SC., Stern, M., Zhang, S., Shojaei A. (2017b) LFA-1/ICAM-1 Interaction as a therapeutic target in dry eye disease. *Journal of Ocular Pharmacology Therapy* 33:5-12.
165. Pisella PJ, Pouliquen P, Baudouin C. (2002). Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication. *British Journal of Ophthalmology* 86:418-423.
166. Pult, H, Riede-Pult, B, Murphy, PJ. (2013). A new perspective on spontaneous blinks. *Ophthalmol.* 120(6), 1086-1091.
167. Pult, H., Murphy, PJ., Purslow, C., Nyman, J., Woods, RL. (2008). Limbal and bulbar hyperaemia in normal eyes. *Ophthalmic and physiological optics* 28:13-20.
168. Pult, H., Murphy, PJ., Purslow, C., Nyman, J., Woods, RL. (2008). Limbal and bulbar hyperaemia in normal eyes. *Ophthalmic Physiological Optics* 28:13-20.

169. Pult, H., Nichols, J.J. (2012) A review of meibography. *Optometry and vision science* 89:E760-E769.
170. Pult, H., Riede-Pult, B.H. (2012) Non-contact meibography: Keep it simple but effective. *Contact Lens and Anterior Eye* 35: 77-80.
171. Pult, H., Riede-Pult, B.H., Nichols, J.J. (2012) Relation between upper and lower lids' Meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optometry and Vision Science* 89: E310-E315.
172. Pult, H., Riede-Pult, B. (2013) Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens & Anterior Eye* 36: 22-27.
173. Qi, Y., Zhang, C., Zhao, S., Huang, Y., Yang, R. (2017) A novel non-invasive ocular surface analyzer for the assessment of dry with Meibomian Gland Dysfunction. *experimental and therapeutic medicine* 13:2983-2988.
174. Quingley, H.A., Broman, A.T. (2006) The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br.J. Ophthalmol* 90(3):262-7
175. Rafuse, P., E., Buys, Y., M., Damji, k., F., Harasymowycz, P., Lajoie, C., Mikelberg, F. S., Murphy, P.H., Nicolela, M., Tingey, D.P. (2009) Guide factuel de pratique clinique de la société d'ophtalmology pour la gestion du glaucome chez l'adulte 44:S55-S93.
176. Redfern, R.I., McDermott, A.M. (2010). Toll-like receptors in ocular surface disease. *Exper. Eye Res.* 90, 679-687.
177. Rege, A., Kulkarni, V., Puthran, N., Khandgave, T. (2013). A clinical study of subtype-based prevalence of dry eye. *J Clin Diagnostic Res* 7:2207-2210.
178. Rico-del-Viejo, L., Lorente- Velázquez, A., Hernández-Vedejo, J.L., García-Mata, R., Benítez-del-Castillo, J.M., Madrid-Costa, D. (2018) The effect of ageing on the ocular surface parameters. *Contact Lens & Anterior Eye* 41:5-12.
179. Ring, M.H., Rabensteiner, D.F., Horwath-Winter, J., Boldin, I., Schrödl, F., Reitsamer, H., Halswanter, T. (2015) Non invasive assessment of the human tear film dynamics. *Anal. of Anatomy* 202: 61-70.
180. Saini, M., Vanathi, M., Dada, T., Agarwal, T., Dhiman, R., khokhar, S. (2017). Ocular surface evaluation in eyes with chronic glaucoma on long term topical antiglaucoma therapy. *International Journal of Ophthalmology* 10:931-938.
181. Schaumberg, D.A., Dana, R., Buring, J.E., Sullivan, D.A. (2009). Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the physicians' health studies. *Archives of Ophthalmology* 127:763-768.

182. Schaumberg, D.A., Nichols, J.J., Papas, E.B., Tong, L., Uchino, M., Nichols, K.K. (2011) The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for MGD. *Investigative Ophthalmology Visual Science* 52:1994-2005.
183. Schaumberg, D.A., Sullivan, D.A., Buing, J.I., Dana, M.R., (2003) Prevalence of dry eye syndrome among US women. *American Journal of Ophthalmology* 16:318-326.
184. Scherz, W., Dohlman, C.H. (1975). Is the lacrimal gland dispensable? Keratoconjunctivitis sicca after lacrimal gland removal. *Archives of Ophthalmology* 93:281-283.
185. Schimazaki, J., Goto, E., Ono, M., Shimmura, S., Tsubota, K. (1998). Meibomian gland dysfunction in patients with Sjögren syndrome, *Ophthalmology* 105:1485-1488.
186. Schirmer, O. (1903) Studien zur Physiologie und Pathologie der Tranenabsonderung und Tranenabfuhr. *Arch Klin Exp Ophthalmol* 56:197.
187. Schmidl, D., Schmetterer, L., Grahofer, G., Popa-Cherecheanu, A. (2015). Gender differences in ocular blood flow. *Curr Eye Res* 40:201-2012.
188. Serruya, LG., Nogueira, DC., Hida, RY. (2009). Schirmer test performed with open and closed eyes: variations in normal individuals. *Arq Bras Oftalmol* 72:65-67.
189. Sharanjeet-Kaur, Ho, CY, Mutalib, HA, Ghazali, AR. (2016). The relationship between tear ferning patterns and non-invasive tear break up time in normal Asian population. *J Optometry* 9: 175-181.
190. Sickenberger W. (2017) Eins, Zwei, Drei- A German' perspective on dry eye numbers in the world. *Contact Lens & Anterior Eye* 40:1-2.
191. Sjögren, H. (1933) "Zur Kenntnis der keratoconjunctivitis sicca" Doctoral thesis.
192. Srinivasan, S., Menzies, k., Sorbara, L., Jones, L. (2012). Infrared imaging of meibomian gland structure using a novel keratograph. *Optometry and vision science* 89:788-794.
193. Stapleton, F., Alves, M., Bunya, V.Y., Jalbert, I., Lekhanont, K., Malet, F., Na, K.S., Schaumberg, D., Uchino, M., Vehof, J., Viso, E., Vitale, S., Jones, L. (2017). TFOS DEWS II Epidemiology report. *The ocular surface* 15:334-368.
194. Stapleton, F., Garrett, Q., Chan, C., Craig, JP. (2015) The epidemiology of dry eye disease. *Dry eye: a practical approach, essentials in ophthalmology*, Springer verlag, Berlin, Heidelberg 21-29.

195. Stern, ME., Schaumburg CS., Dana, R., Calogne, M., Niederkorn, JY & Pflugfelder, SC. (2010) Autoimmunity at the ocular surface: pathogenesis and regulation. *Mucosal Immunology* 3:425-442.
196. Steven, P., Cursiefen, C. (2013). Glaukom und trockenes Auge: aktueller Zustand und Zukunftsperspektiven. *Ophthalmologie* 110:1155-1159.
197. Stewart, W.C., Stewart, J.A., Nelson, L.A. (2011). Ocular surface disease in patients with ocular hypertension and glaucoma. *Current Eye research* 36:391-398.
198. Sullivan, D.A., Rocha, E.M., Aragona, P., Clayton, J.A., Ding, J., Golebiowski, B., Hample, U., McDermott, A.M., Schaumberg, D.A., Srinivasan, S., Versura, P., Willcox, M.D.P. (2017). TFOS DEWS II Sex, gender and hormones report. *The Ocular surface* 15:284-333.
199. Sullivan, DA, Yamagami, H, LIU, M et al. (2002). Sex steroids, the Meibomian gland and evaporative dry eye. *Adv Exp Med Biol* 506:389-399.
200. Sweeney, D.F., Millar, T.J., Raju, S.R. (2013). Tear film stability: a review. *Experimental Eye Research* 117: 28-38.
201. Tapie, R. (1977). Etude biomicroscopique des glandes de meibomius. *Annali di Ottalmologia* 210:637-648.
202. Tham, Y-Ch, Li, X., Wong, TY, Quiqgley, HA, Aung, T, Cheng, C-Y (2014). Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040. *Ophthalmology* 121, 2081-2090.
203. Tian, L. Qu, J., Zhang, X., Sun, X. (2016). Repeatability and reproducibility of noninvasive keratography 5M measurements in patients with dry eye disease. *J Ophthalmol*, 2016, 8p.
204. Tomlinson, A., Bron, J.B., Korb, D.R., Amano, S., Paugh, J.R., Pearce, E.I., Yee, R., Yokoi, N., Arita, R., Dogru, M. (2011). The international workshop on Meibomian gland dysfunction: Report of the diagnosis subcommittee. *Investigative Ophthalmology Visual Science* 52: 2006-2049.
205. Tomlinson, A., Khanal, S. (2005) Assessment of tear film dynamics: Quantification Approach. *The Ocular Surface* 3: 81-94.
206. Tong, L., Chaurasia, S.S., Mehta, J.S., Beuerman, R.W. (2010). Screening of Meibomian gland disease: its relation to dry eye subtypes and symptoms in a tertiary referral clinic in Singapore, *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences* 51:3449-3454.
207. Tressler, C.S., Beatty, R., Lemp, M.A., (2011) Preservative use in topical glaucoma medications. *The Ocular Surface* 9:140-158.

208. Truong, S, Cole, N, Stapleton, F, Golebiowski, B. (2014). Sex hormones and dry eye. *Clin Exp Optom* 97(4):324-326.
209. Tsubota, K., Yokoi, N., Shimazaki, J., Watanabe, H., Dogru, M., Yamada, M., Kinoshita, S., Kim, H.M., Tchah, H.W., Hyon, J.Y., Yoon, K.C., Seo, K.Y., Sun, X., Chen, W., Liang, L., Li, M., Liu, Z. (2017) New perspectives on dry eye definition and diagnosis: A consensus report by the Asia dry eye society. *The Ocular Surface* :15:65-76.
210. Tung, CI, Perin, AF, Gumus, K, Pflugfelder, SC. (2015). Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *Am J Ophthalmol* 157:301-310.
211. Uchino, M, Tsubota, K. (2010). Tear film overview. *Encyclopedia of the eye*, 263-268.
212. Vajaranant, TS., Nayak, S., Wilensky, JT., Joslin, CE. (2010). Gender and glaucoma: what we know and what we need to know. *Curr Opin Ophthalmol* 21(2):91-99.
213. Vehof, F, Sillevius Smitt-Kamminga, N, Nibourg, SA, Hammond, CJ. (2018). Sex differences in clinical characteristics of dry eye disease. *Ocul Surf* 16:242-248.
214. Veres A, Tapasztó B, Kosina-Hagyó K, et al. (2011). Imaging lid-parallel conjunctival folds with OCT and comparing its grading with the slit lamp classification in dry eye patients and normal subjects. *Investigative Ophthalmology Vision Science*, 52:2945–2951.
215. Villani, E., Sacchi, M. Magnani, F., Nicodemo, A., Williams, S.E.I., Rossi, A., Ratiglia, R., Cilla, S., Nucci, P. (2016). The ocular surface in medically controlled glaucoma: an in vivo confocal study. *Cornea* 57:1003-1010.
216. Viso, E., Francisco, F., Rodríguez- Ares, M.T. (2011) The association of meibomian gland dysfunction and other ocular diseases with dry eye: A population-based study in Spain. *Cornea* 30:1-6.
217. Viso, E., Gude, F., Rodríguez-Ares, M.T. (2011). The association of Meibomian gland dysfunction and other common ocular diseases with dry eye: a population-based study in Spain, *Cornea* 30:1-6.
218. Viso, E., Rodríguez-Ares, MT., Abelenda, D. Oubina, B., Gude, F. (2012). Prevalence of asymptomatic and symptomatic meibomian gland dysfunction in the general population of Spain. *Investigative Ophthalmol Visual Sci* 53:2601-2606.
219. Wang, HF, Fukuda, M, Shimomura, Y. (2005). Diagnosis of dry eye. *Seminars Ophthalmol* 20: 53-62.
220. Wei, A., Qihua, L., Hong, J., Wang, W., Wang, F., Xu, J. (2016). Assessment of lower tear meniscus. *Optometry Vision Sci.* 93(11):1420-1425.

221. Wei, Y., Asbell, P. (2014) The core mechanism of dry eye disease is inflammation. *Eye & Contact Lens* 40: 248-256.
222. C3O (1982). Research on the menopause.
223. C3O <http://www.who.int/blindness/causes/en>;
224. Wiedemann, D, Sickenberger, W., Michel, M., Marx, S. (2010). Validation of an objective non-invasive method for a qualitative tear film assessment using a corneal topographer. *Die Kontaktlinse* 7:1-25.
225. Wiedemann, D, Sickenberger, W, Michel, M, Marx, S. (2010). Development and realization of a new non-invasive method for tear film assessment using a corneal topographer. DOI:10.13140/RG.2.2.11607.68007.
226. Willcox, M., Argueso, P., Georgiev, G.A., Holopainen, J.M., Laurie, G.W., Millar, T.J., Papas, E.B., Rolland, J.P., Schimdt, T.A., Stahl, U., Suarez, T., Subbaraman, L.N., Ucakhan, O., Jones, L. (2017). TFOS DEWS II tear film report. *The ocular surface* 15:369-406.
227. Wilshire, C, Buckley, RJ, Bron, AJ. (2018). Estimating basal tear osmolarity in normal and dry eye subjects. *Contact Lens Ant. Eye* in press <https://doi.org/10.1016/j.clae.2017.09.005>
228. Wise, R.J., Sobel, R.K., Allen, R.C. (2012) Meibography a review of techniques and technologies. *Saudi Journal of Ophthalmology* 26: 349-356.
229. Wolff, E. (1946). Mucocutaneous junction of lid-margin and distribution of tear fluid. *Trans Ophthal Soc UK* 66, 291-308.
230. Wolffsohn J.S., Arita, R., Chalmers, R., Djalilian, A., Dogru, M., Dumbleton, K., Gupta, PK., Karpecki, P., Lazreg, S., Pult, H., Sullivan, B.D., Tominson, A., Tong, L., Villani, E., Yoon, K.C., Jones, L., Craig, J. (2017). TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *The ocular surface* 15:544-579.
231. Wolfs, RC>, Klaver, CC., Vingerling, JR., Grobbee, DE., Hofman, A. et al. (1997). Distribution of central corneal thickness and its association with intraocular pressure: The Rotterdam Study. *Am J Ophthalmol* 123:767-772.
232. Wu, S., Hong, J., Tian, L., Cui, X., Sun, X., Xu, J. (2015). Assessment of bulbar redness with a newly developed keratography. *Optometry and vision science* 92:892-899.
233. Wu, Y, Li, H., Tang, Y., Yan, X. (2017). Morphological evaluation of meibomian glands in children and adolescents using noncontact infrared meibography. *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* 54:78-83.
234. Xu, KP., Yagi, Y., Toda, I., Tsubota, K. (1995). Tear function index. A new measure of dry eye. *Archives of ophthalmology* 113:84-88.

235. Yamagami, H, Richards, SM, Sullivanm BD et al. (2002). Gender-associated differences in gene expression in the Meibomian gland. Adv Exp Med Biol 506:459-463.
236. Yamaguchi, N., Sakane, Y., Kamao, T., Zheng, X., Goto, T., Shiraishi, A., Ohashi, Y., (2016) Non invasive dry eye assessment using high-technology ophthalmic examination divices. Cornea 35:S38-S48.
237. Yoo, Y.-S., Na, K.-S., Byun, Y.-S., Shin, J.G., Lee, B.H., Yoon, G., Eom, T.J., joo, C.-K. (2017). Examination of gland dropout detected on infrared meibography by using optical coherence tomography meibography. The ocular surface 15:130-138.
238. Yu, J., Asche, C., V., Fairchild, C., J., (2011) The economic burden of dry eye disease in the United States: A decision tree analysis Cornea 30:379-387.
239. Yuksel, N., (2013) Evaluation of ocular surface disease associated with glaucoma patients. European Ophthalmic Review 7:81-83.
240. Zhou, L., Beuerman, R., W., (2012) Tear analysis in ocular surface diseases. Progress in Retinal and Eye Research 31:527-550.
241. Ali, NM, Hamied, FM, Farhood, QK. (2017). Corneal thickness in dry eyes in an Iraqi population. Clin Ophthalmol 11:435-440.
242. Turgut, FG, Turgut, A, Dolgun, ZN, Koroglu, N. (2017). Effects of menopause on corneal topography and dry eye. Int J Reproduction, Contracept, Obstetrics Gyn 6:461-465.

Авторът изказва своята най-дълбока признателност към семейството си за любовта, подкрепата и търпението, проявени през цялото време, необходимо за изработване на настоящия дисертационен труд.

Благодарност към научните ръководители и колегите от очна клиника на УМБАЛ „Александровска“, които помогнаха за набиране на пациентите за реализиране на научния труд. Благодаря!