

Zastosowanie nieinwazyjnych i inwazyjnych metod diagnostycznych do oceny skuteczności trzech preparatów sztucznych łez w leczeniu zespołu suchego oka

The use of non-invasive and invasive diagnostic methods to evaluate the effectiveness of three artificial tear preparations in the treatment of dry eye syndrome

Dorota Szczęsna-Iskander¹, Maria Muzyka-Woźniak^{2,3}, Maciej Osęka⁴

¹Katedra Optyki i Fotoniki, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska

Kierownik Katedry: prof. dr hab. Waław Urbańczyk

²Ośrodek Okulistyki Klinicznej SPEKTRUM we Wrocławiu

Dyrektor medyczny: dr n. med. Jarosław Marek

³Ośrodek Badawczo-Rozwojowy CREO we Wrocławiu

Kierownik: dr n. med. Maria Muzyka-Woźniak

⁴OFTALABS sp. z o.o.

Kierownik: dr n. med. Maciej Osęka



NAJWAŻNIEJSZE

Nieinwazyjne metody pomiaru filmu łzowego są przydatnym narzędziem do oceny skuteczności preparatów sztucznych łez.

HIGHLIGHTS

Non-invasive tear film diagnostic methods are useful for the assessment of artificial tears effectiveness.

STRESZCZENIE

Cel: Ocena skuteczności 3 powszechnie stosowanych preparatów sztucznych łez u pacjentów z objawami zespołu suchego oka.

Materiał i metody: W 4-tygodniowym badaniu uczestniczyło 30 osób z objawami suchego oka. Badani w schemacie 1 : 1 : 1 otrzymywali: grupa 1. – dekspantenol 2% i hydroksypropylocelulozę 0,5%; grupa 2. – trehalozę 3% i hialuronian sodu 0,15%; grupa 3. – hialuronian sodu 0,24%. Badania wykonano przed rozpoczęciem leczenia i po 28 dniach. Zastosowano kwestionariusz OSDI wskaźnika choroby powierzchni oka, ocenę objawów subiektywnych, nieinwazyjne obrazowe badania diagnostyczne 2 wideokeratoskopami z dużą i małą czasą projekcyjną, test Schirmera oraz badania w lampie szczelinowej z barwieniem fluoresceiną i zielenią lizaminy. W analizie statystycznej użyto testu t-Studenta dla prób zależnych.

Wyniki: Wszystkie preparaty doprowadziły do poprawy OSDI. W grupie 1. redukcji uległy cztery, a w grupach 2. i 3. – dwa subiektywne objawy suchego oka ($p < 0,05$). Nieinwazyjny czas przzerwiania filmu łzowego (NIBUT) był znacząco dłuższy w grupach 1. i 3. ($p < 0,05$) jedynie w pomiarach wideokeratoskopem z małą czasą. Tempo postępującego pogarszania się jakości powierzchni filmu łzowego po mrugnieniu uległo spowolnieniu tylko w grupie 1. ($p < 0,05$). Stopień barwienia rogówki fluoresceiną zmniejszył się we wszystkich grupach ($p < 0,05$). Nie zaobserwowano istotnych zmian w teście Schirmera, wysokości menisku łzowego i w NIBUT mierzonym wideokeratoskopem z dużą czasą.

Wnioski: Badane preparaty zmniejszyły subiektywne i obiektywne objawy zespołu suchego oka. Znacząco polepszyły komfort pacjenta i stan nabłonka rogówki. Poprawa stabilności filmu łzowego zależała od rodzaju kropli i metody badawczej.

Słowa kluczowe: zespół suchego oka, czas przzerwiania filmu łzowego, dekspantenol, kwas hialuronowy, trehaloza, hydroksypropyloceluloza

ABSTRACT

Objectives: The assessment of three commercially available artificial tear formulations for dry eye disease (DED) treatment.

Material and methods: This 4-week, randomised prospective study enrolled 30 patients with DED symptoms. Patients received (in scheme 1 : 1 : 1): group 1 – dexpanthenol 2% and hydroxypropylcellulose 0.5%; group 2 – trehalose 3% and sodium hyaluronate 0.15%; group 3 – sodium hyaluronate 0.24%. All assessments were performed before and 28 days after treatment and included Ocular Surface Disease Index (OSDI), subjective symptoms, non-invasive imaging using a cone- and a bowl-type videokeratoscope, Schirmer test and slit lamp exam including fluorescein and lissamine green ocular surface staining. T-test was used for statistical analysis of the results.

Results: All groups had significantly lower OSDI. Four subjective symptoms improved in group 1 and only two subjective symptoms improved in groups 2 and 3. Non-invasive break-up time (NIBUT) was significantly longer after treatment in groups 1 and 3 ($p < 0.05$). The ratio of tear film surface quality distortion was lower only in group 1 ($p < 0.05$). Corneal fluorescein staining was reduced in all groups after treatment ($p < 0.05$). There were no statistically significant changes in Schirmer test, tear meniscus height and NIBUT measured with a bowl-type videokeratoscope after treatment.

Conclusions: All preparations reduced the subjective and objective symptoms of DED. The corneal epithelium and general subjective comfort improved regardless of used artificial tear formulation. Nonetheless, the tear film break-up time change depended on the diagnostic method and treatment type.

Key words: dry eye syndrome, tear film break-up time, dexpanthenol, hyaluronic acid, trehalose, hydroxypropylcellulose

WSTĘP

Zgodnie z definicją Stowarzyszenia Filmu Łzowego i Powierzchni Oka (TFOS, *Tear Film & Ocular Surface Society*) opracowaną podczas Międzynarodowych Warsztatów Suchego Oka II (DEWS II, *Dry Eye Workshop II*) zespół suchego oka (ZSO) jest chorobą wieloczynnikową, której nie można scharakteryzować pojedynczym objawem przedmiotowym lub podmiotowym [1]. Ustalenie głównego czynnika wywołującego ZSO wymaga przeprowadzenia wielu badań diagnostycznych. Klasyczny podział ZSO wyróżnia dwie postaci: związaną z niedoborem warstwy wodnej oraz związaną z niedoborem warstwy lipidowej [2]. Obie formy często współistnieją i nakładają się na siebie w różnym stopniu. Ponadto nie ma jednego prostego algorytmu leczenia ZSO, ponieważ postępowanie zależy od stopnia nasilenia choroby oraz jej charakteru. Leczeniem pierwszego rzutu pozostają nadal preparaty sztucznych łez. Różnią się one między sobą wieloma właściwościami chemicznymi i fizycznymi, które mogą warunkować ich skuteczność kliniczną. Pomimo dużej różnorodności preparatów sztucznych łez ich wybór jest często przypadkowy.

Jednymi z najczęściej stosowanych składników nawilżających w preparatach sztucznych łez są kwas hialuronowy

(HA, *hyaluronic acid*), pochodne celulozy, np. hydroksypropyloceluloza (HPC), oraz trehaloza. HA jest mukopolisacharydem stanowiącym główny komponent macierzy międzykomórkowej o działaniu przeciwzapalnym. HPC to półsyntetyczny polimer o właściwościach kohezyjnych i mukoadhezyjnych [3, 4]. Trehaloza natomiast jest disacharydem złożonym z 2 cząsteczek d-głukozy połączonych wiązaniem O-glikozydowym wpływającym stabilizująco na błony komórkowe [5, 6]. Niektóre preparaty sztucznych łez zawierają również substancje dodatkowe, takie jak np. dekspantenol, składnik witaminy B₅, która pobudza regenerację nabłonka rogówki i hamuje procesy zapalne [7].

Raport DEWS II zawiera sugestie dotyczące postępowania w leczeniu ZSO oraz omówienie metod pomiarowych wraz z propozycją kolejności ich stosowania w diagnostyce ZSO. Podkreślono tam wagę nieinwazyjnych i obiektywnych metod pomiarowych, takich jak pomiar nieinwazyjnego czasu przerwania filmu łzowego (NIBUT, *non-invasive tear film break-up time*), i zasugerowano, w miarę możliwości, zastąpienie pomiaru czasu przerwania filmu łzowego po barwieniu fluoresceiną (FBUT, *fluorescein tear film break-up time*) metodami nieinwazyjnymi. Techniki

nieinwazyjnego pomiaru czasu przerwania filmu łzowego są najczęściej oparte na analizie odbitych wzorów, tj. siatek lub koncentrycznych dysków Placido, od powierzchni filmu łzowego. Najbardziej dostępnymi urządzeniami pozwalającymi na nieinwazyjny i obiektywny pomiar czasu przerwania filmu łzowego są wideokeratometry. Pierwotnie służyły one wyłącznie do oceny topografii rogówki, ale dzięki wbudowanym kamerom umożliwiającym rejestrację sekwencji obrazów oraz proponowanemu przez producentów specjalnemu oprogramowaniu do analizy regularności rejestrowanych dysków Placido, stały się coraz szerzej wykorzystywane do oceny stabilności filmu łzowego [8–10]. Celem badania było zastosowanie nieinwazyjnych, obiektywnych metod diagnostycznych filmu łzowego oraz standardowych, klinicznych testów diagnostycznych (subiektywnych i obiektywnych) do oceny skuteczności 3 powszechnie stosowanych preparatów sztucznych łez u pacjentów z objawami zespołu suchego oka.

PACJENCI I METODY

Przeprowadzone badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Dolnośląskiej Izbie Lekarskiej. Wszyscy pacjenci zostali poinformowani o przebiegu eksperymentu i podpisali świadomą zgodę na udział przed jego rozpoczęciem. Do badań wykorzystano 3 rodzaje komercyjnie dostępnych i popularnych na rynku preparatów sztucznych łez, których specyfikacja została podsumowana w tabeli 1.

TABELA 1	
Wykorzystane w badaniu preparaty sztucznych łez i ich podstawowy skład.	
Nazwa kropli	Skład
Grupa 1.	dekspantenol 2%, hydroksypropyloceluloza 0,5%, poliheksanid 0,0001%
Grupa 2.	trehaloza 3%, hialuronian sodu 0,15%, chlorek sodu, trometamol, kwas chlorowodorowy, woda do wstrzykiwań
Grupa 3.	hialuronian sodu 0,24%, chlorek sodu, chlorek potasu, disodu fosforan dwunastowodny, sodu diwodorofosforan dwuwodny, woda jałowa

Prospektywne, randomizowane badanie porównawcze trwało 4 tygodnie. Zakwalifikowani pacjenci byli losowo przydzielani do 1 z 3 badanych grup w schemacie randomizacji 1 : 1 : 1. Każda grupa przyjmowała przez 28 dni (± 2 dni) jeden z badanych preparatów sztucznych łez, 4 razy dziennie po 1 kropli.

Procedury badawcze obejmowały: ogólny wywiad lekarski, wywiad okulistyczny, kwestionariusz OSDI [11], oce-

nę nasilenia objawów subiektywnych, nieinwazyjne badania obrazowe filmu łzowego, za pomocą których oceniano jakość powierzchni filmu łzowego, oraz okulistyczne badania diagnostyczne w kierunku zespołu suchego oka, tj. test Schirmera i obserwacje w biomikroskopie z lampą szczelinową pod kątem oceny wysokości menisku łzowego, przekrwienia i obrzęku spojówki gałkowej, obrzęku brzegu powieki, wydzieliny z gruczołów Meiboma, stabilności filmu łzowego i barwienia nabłonka rogówki i spojówki oraz odczynu brodawkowego i pęcherzykowego spojówki powiekowej.

Do badania kwalifikowano pacjentów powyżej 18. r.ż. ze stwierdzonym wcześniej ZSO, gdy OSDI wynosił powyżej 22 pkt, FBUT był krótszy niż 10 s i gdy barwienie rogówki i/lub spojówki oceniono powyżej 3 pkt w skali SICCA (*Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance*) [12].

Do badania nie kwalifikowano chorych na cukrzycę, alergię, kobiet w ciąży, osób, u których w ciągu 2 miesięcy przed rozpoczęciem badania występowała infekcja oka lub aparatu ochronnego oka, oraz osób, które poddały się laserowej korekcji wady wzroku lub innym zabiegom okulistycznym w ciągu 6 miesięcy przed rozpoczęciem badania. Do kryteriów wyłączenia z badania należało również przyjmowanie na stałe jakichkolwiek innych kropli do oczu niż preparaty sztucznych łez. Przed włączeniem do badania wszyscy pacjenci zostali poproszeni o zaprzestanie stosowania preparatów sztucznych łez na min. 3 dni. W tym czasie wolno im było doraźnie stosować, jeśli było to konieczne, sterylny roztwór NaCl 0,9% do przemywania powierzchni oka.

Na podstawie powyższej kwalifikacji w badaniu wzięło udział 30 osób (27 kobiet, 3 mężczyzn) w wieku 20–81 lat (średnia \pm odchylenie standardowe: $53,3 \pm 15,3$ roku). Nikt z badanych nie podawał w wywiadzie alergii ani chorób immunologicznych, nikt nie używał soczewek kontaktowych. Na podstawie badań okulistycznych zdiagnozowano u pacjentów ZSO na tle zaburzenia warstwy wodnej, zaburzenia warstwy lipidowej lub współistnienie obu zaburzeń.

PRZEBIEG POMIARU

Wszystkie procedury badawcze przeprowadzono dwukrotnie: w 1. i 28. dniu. Po wstępnej kwalifikacji pacjentów do badania, w innym dniu przeprowadzono w pierwszej kolejności nieinwazyjne badania obrazowe, następnie pełne badanie okulistyczne. Objawy subiektywne (świąd, łzawienie, uczucie ciała obcego, obecność porannej wydzieliny i zlepiania powiek, światłowstręt) oceniane były w skali 0–3, gdzie 0 oznaczało brak objawów, a 3 – największe nasilenie objawów. Okulistyczne badania diagnostyczne ZSO obejmowały obserwacje w biomikroskopie z lampą

szczelinową, w tym: wysokość menisku łzowego mierzoną w odniesieniu do kalibrowanej wysokości szczeliny światła w lampie szczelinowej, FBUT, ocenę barwienia rogówki fluoresceiną, ocenę barwienia spojówki zielenią lizaminy oraz test Schirmera I po znieczuleniu. Do barwienia rogówki oraz do badania FBUT wykorzystano standardowe, sterylne jednorazowe paski fluoresceiny (Madhu Instruments Pvt. Ltd.). Do barwienia spojówki zastosowano standardowe, sterylne jednorazowe paski zieleni lizaminy (BIOTECH Vision Care Pvt. Ltd.). Paski z barwnikami były odpowiednio zwilżane sterylnym roztworem NaCl 0,9%. Test Schirmera I po znieczuleniu przeprowadzany był po dwukrotnym podaniu kropli proksymetainy 0,5% w odstępie 1 min do worka spojówkowego. Bibułę testową (OPTITECH Europe BVBA) umieszczano w skroniowej części załamka spojówki, unikając kontaktu z rogówką. Zakres zwilżenia bibuły łzami oceniano po 5 min. Wszystkie badania były przeprowadzone w ten sam standaryzowany sposób, przez tego samego doświadczonego okulistę, w tych samych warunkach, zgodnie z wytycznymi TFOS DEWS II.

Nieinwazyjne badania obrazowe obejmowały pomiary za pomocą 2 wideokeratoskopów: K5M (Oculus Optikgeräte, Wetzlar, Germany) z dużą czasą projekcyjną oraz E300 (Medmont Pty., Ltd, Melbourne, Australia) z małą czasą projekcyjną. W K5M wykorzystano moduł dynamicznego obrazowania filmu łzowego wraz z oprogramowaniem pozwalającym na obiektywną ocenę nieinwazyjnego keratograficznego czasu przzerwania filmu łzowego (NIK BUT, *non-invasive keratograph break-up time*) oraz moduł pomiaru wysokości menisku łzowego. Do pomiaru NIK BUT użyto światła podczerwonego. W E300 powierzchnię filmu łzowego badano za pomocą modułu dynamicznej topografii, a parametr NTBUT (nieinwazyjny czas przzerwania filmu łzowego oszacowany za pomocą drugiego wideokeratoskopu – E300) oceniano na podstawie własnego algorytmu analizy obrazów dysków Placido. Wszystkie badania

przeprowadzone zostały przez doświadczonego inżyniera biomedycznego.

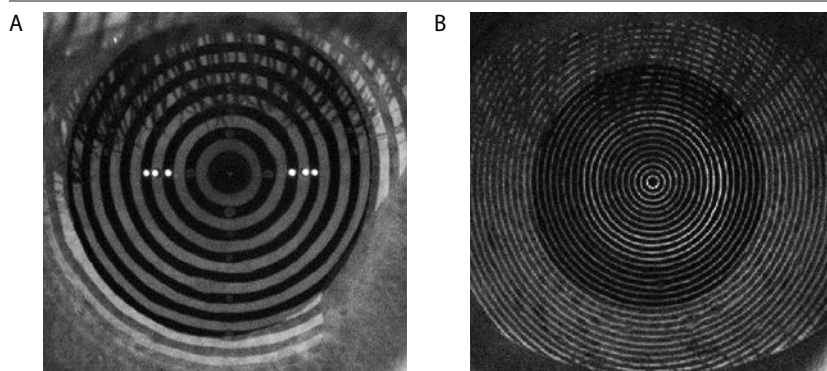
W pomiarach obydwoma wideokeratoskopami pacjenci byli proszeni o skupienie wzroku na punkcie fiksacji i dwukrotne mrugnięcie w sposób naturalny, a następnie o jak najdłuższe wstrzymanie mrugania, ale nie dłużej niż przez 25 s. Obrazy przedstawiające odbite od powierzchni filmu łzowego dyski Placido rejestrowano z częstotliwością 16 Hz (K5M) i 13 Hz (E300). Przykładowe obrazy przedstawiające lokalne zniekształcenia dysków Placido zaprezentowano na rycinie 1. Pomiary były wykonywane dwukrotnie przy zachowaniu 3-minutowej przerwy pomiędzy nimi.

Za pomocą oprogramowania K5M do analizy powierzchni filmu łzowego uzyskuje się 2 parametry: NIK BUT_{First} oraz NIK BUT_{Av}. Pierwszy określa czas od mrugnięcia do momentu pojawienia się pierwszego lokalnego zniekształcenia dysku lub dysków Placido. Drugi parametr określa średni czas pojawiania się wszystkich deformacji okręgów Placido od początkowego mrugnięcia do końca rejestracji, która następuje automatycznie wraz z kolejnym mrugnięciem lub po 25 s.

Dzięki wykorzystaniu modułu dynamicznej topografii w E300 uzyskano trzykrotnie lepszą częstotliwość próbkowania niż w module analizy filmu łzowego pozwalającym na automatyczną analizę czasu przzerwania filmu łzowego. Wykorzystany moduł posłużył jedynie do rejestracji obrazów, a do ich dalszej analizy numerycznej zastosowano własny algorytm oparty na analizie homogeniczności obrazu. Detale techniczne algorytmu zostały opublikowane gdzie indziej [13], tutaj skupimy się jedynie na omówieniu otrzymanych wyników. Dla każdego pojedynczego obrazu otrzymano parametr TFSQ (*tear film surface quality*) określający za pomocą arbitralnej liczby chwilową jakość powierzchni filmu łzowego. Wzrost wartości parametru TFSQ oznacza większe deformacje dysków Placido i tym samym gorszą jakość powierzchni filmu łzowego. Przykła-

RYCINA 1

Przykładowe obrazy zarejestrowane za pomocą wideokeratoskopu K5M (A) i E300 (B) ilustrujące dyski Placido odbite od powierzchni filmu łzowego.



dowy przebieg zmian parametru TFSQ w zarejestrowanej sekwencji został przedstawiony za pomocą czarnej linii na rycinie 2. Następnie przy wykorzystaniu funkcji dwuliniowej wpisanej w procesie iteracyjnym metodą najmniejszych kwadratów opisano trend tych zmian (czerwona linia na rycinie 2). Punkt przecięcia funkcji liniowych (czerwony punkt) oznacza moment destabilizacji filmu łzowego i za jego pomocą określono nieinwazyjny czas przzerwania filmu łzowego (NTBUT). Współczynnik kierunkowy (TFSQ-A₂) drugiej wpisanej funkcji liniowej (czerwona ciągła linia) posłużył do określenia szybkości destabilizacji i pogarszania się jakości powierzchni filmu łzowego. Dodatkowo wartości współczynnika TFSQ-A₂ oznaczają dalsze pogarszanie się jakości powierzchni filmu łzowego po rozpoznaniu pierwszego przzerwania filmu łzowego, podczas gdy ujemne wartości tego współczynnika oznaczają kontynuację wygładzania się powierzchni filmu łzowego. Dodatkowo testowano, czy dopasowanie dwuliniowe jest statystycznie uzasadnione. Sugerując się pracą Owsleya i wsp. [14], obliczono współczynnik wiarygodności logarytmicznej współczynników korelacji Pearsona dla dopasowania zarówno liniowego, jak i dwuliniowego. W przypadku gdy dopasowanie całego przebiegu pojedynczą funkcją liniową wykazało statystycznie wyższą wartość współczynnika korelacji Pearsona ($p > 0,01$) niż dla funkcji dwuliniowej, za NTBUT uznawano maksymalny czas rejestracji wideo, a współczynnik TFSQ-A₂ = 0.

Badacze w czasie wykonywania badania nie wiedzieli, jaki rodzaj preparatów sztucznych łez przyjmowany jest przez pacjentów. Pacjenci znali nazwy rynkowe stosowanych preparatów.

ANALIZA STATYSTYCZNA

Do analizy statystycznej wykorzystano dane dotyczące tylko prawych oczu. Przeprowadzono analizę statystyczną testem t-Studenta dla prób zależnych i niezależnych. Poziom istotności statystycznej ustalono na poziomie 0,05. Nie uwzględniono korekcji Bonferroniego [15].

WYNIKI

Dane demograficzne pacjentów przedstawiono w tabeli 2. Pacjenci w grupie 1. byli statystycznie znacząco starsi od tych z grupy 2. ($p = 0,02$). W grupie 2. żaden pacjent nie przebył operacji usunięcia zaćmy. W pozostałych grupach operacje te zostały przeprowadzone ponad 6 miesięcy przed badaniem.

We wszystkich grupach po okresie leczenia zaobserwowano poprawę objawów subiektywnych. W grupie 1. statystycznie istotna poprawa dotyczyła czterech objawów subiektywnych (świąd, łzawienie, uczucie ciała obcego, światłowstręt), a w grupach 2. i 3. – dwóch (tab. 3).

RYCINA 2

Przykładowy przebieg zmian parametru TFSQ określającego dynamikę zmian jakości powierzchni filmu łzowego oraz przykładowe obrazy z tej sekwencji zarejestrowane odpowiednio 3 s i 12 s po mrugnieniu oraz tuż przed kolejnym mrugnieniem wywołanym dyskomfortem.

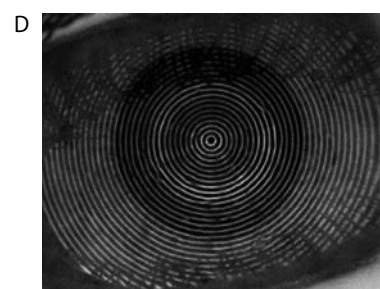
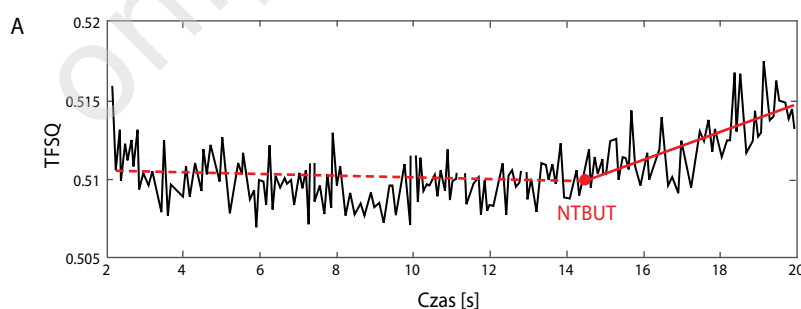


TABELA 2

Dane demograficzne badanych osób z podziałem na grupy.

	Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
Wiek (lata)	61,0 ± 9,6	46,9 ± 16,0	51,7 ± 15,4
Płeć (kobiety/mężczyźni)	9/1	9/1	9/1
Praca biurowa	5	6	8
Praca w klimatyzowanym pomieszczeniu	2	4	4
Przebyta operacja zaćmy	3	0	3
Stosowanie w przeszłości kropli nawilżających	10	9	8
Palenie papierosów	2	2	2

TABELA 3

Subiektywne objawy suchego oka przed leczeniem i po nim w 3 badanych grupach.

		Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
Świąd	przed leczeniem	1,6 ± 0,7	0,9 ± 0,7	0,9 ± 0,5
	po leczeniu	0,5 ± 0,5*	0,7 ± 0,6	0,4 ± 0,7*
Łzawienie	przed leczeniem	1,1 ± 0,9	1,2 ± 0,9	0,9 ± 0,9
	po leczeniu	0,4 ± 0,8*	0,7 ± 0,9*	0,6 ± 0,8
Uczucie ciała obcego	przed leczeniem	1,5 ± 0,5	2,1 ± 0,8	1,1 ± 0,7
	po leczeniu	0,7 ± 0,9*	1,0 ± 1,2*	0,5 ± 0,8*
Wydzielina	przed leczeniem	0,6 ± 0,7	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,4
	po leczeniu	1,0 ± 1,0	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,6
Światłowstręt	przed leczeniem	1,6 ± 0,5	1,2 ± 0,9	1,3 ± 0,8
	po leczeniu	1,3 ± 0,8*	1,0 ± 0,9	1,2 ± 0,9
OSDI	przed leczeniem	46,99 ± 16,69	51,81 ± 12,75	34,72 ± 12,43
	po leczeniu	31,42 ± 20,80*	24,49 ± 18,65*	14,40 ± 9,99*

* Różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$).

Po terapii każdym z 3 preparatów odnotowano wysoce znaczące zmniejszenie symptomów suchego oka ocenionych za pomocą kwestionariusza OSDI, które przed terapią wynosiły: 46,99 ± 16,69; 51,81 ± 12,75 i 34,72 ± 12,43 odpowiednio dla grup 1., 2. i 3., a po terapii: 31,42 ± 20,80 ($p = 0,011$); 24,49 ± 18,65 ($p < 0,001$) i 14,40 ± 9,99 ($p = 0,001$).

Średnia wysokość filmu łzowego mierzonego w lampie szczelinowej przed leczeniem wynosiła w grupach 1., 2. i 3. odpowiednio: 0,3 mm; 0,2 mm i 0,2 mm, i nie uległa istotnej zmianie po leczeniu. Natomiast średnia wysokość menisku łzowego zarejestrowana i zmierzona za pomocą K5M wyniosła odpowiednio: 0,26 ± 0,09 mm; 0,27 ± 0,10 mm; 0,31 ± 0,07 mm, i zwiększyła się po leczeniu we wszystkich grupach, ale jedynie dla grupy 3. był to wzrost znaczący statystycznie ($p = 0,045$).

Średni FBUT dla oczu prawych przed leczeniem wynosił w grupach 1., 2. i 3. odpowiednio: 5,5 ± 2,6 s; 4,5 ± 1,8 s i 5,3 ± 2,5 s. Po leczeniu zauważono wydłużenie czasu przetrwania filmu łzowego w każdej grupie, ale jedynie w 2 było ono znaczące ($p = 0,008$). Rozważając jednak zmiany FBUT dla obojga oczu, statystycznie znaczącą poprawę odnoto-

wano w grupach 1. ($p = 0,037$) i 2. ($p = 0,004$), ale nie w 3. ($p = 0,055$).

Barwienie rogówki fluoresceiną zmniejszyło się po leczeniu we wszystkich badanych grupach ($p < 0,03$) (tab. 4). Barwienie spojówki zielenią lizaminy zmniejszyło się po leczeniu tylko w grupach 2. i 3. ($p < 0,02$). Po włączeniu do analizy oka lewego istotne statystycznie zmniejszenie barwienia spojówki zaobserwowano wyłącznie w grupie 3. ($p = 0,008$). Wartość testu Schirmera I po znieczuleniu w 3 badanych grupach wynosiła wyjściowo odpowiednio: 7,6 ± 3,6 mm, 6,5 ± 3,9 mm oraz 5,0 ± 2,9 mm, i nie uległa istotnej zmianie po leczeniu w żadnej badanej grupie.

Ostatecznie w każdej grupie byli pacjenci z rozpoznaniem zaburzenia warstwy wodnej, lipidowej i obu warstw w następującym stosunku – 1 : 4 : 5 (grupa 1.), 2 : 3 : 5 (grupa 2.), 5 : 2 : 3 (grupa 3.).

Średni nieinwazyjny czas przetrwania filmu łzowego NIK-BUT_{First} przed rozpoczęciem stosowania kropli nawilżających w poszczególnych grupach wynosił odpowiednio dla grup 1., 2. i 3: 7,06 ± 4,48 s; 9,97 ± 3,56 s; 8,21 ± 4,77 s. W żadnej grupie nie zarejestrowano znacznego polepszenia tego wy-

TABELA 4

Porównanie wyników badań przed leczeniem i po nim w 3 grupach.

		Grupa 1.	Grupa 2.	Grupa 3.
Barwienie rogówki fluoresceiną	przed leczeniem	1,9 ± 0,7	2,0 ± 0,9	1,9 ± 0,8
	po leczeniu	1,2 ± 0,6*	0,9 ± 0,7*	1,0 ± 0,6*
Barwienie spojówki zieloną lizaminą	przed leczeniem	0,7 ± 0,6	1,7 ± 0,6	2,0 ± 1,9
	po leczeniu	0,9 ± 0,9	0,6 ± 0,7*	0,8 ± 1,2*
FBUT (sekundy)	przed leczeniem	5,5 ± 2,6	4,5 ± 1,8	5,3 ± 2,5
	po leczeniu	7,5 ± 3,9	8,3 ± 4,0*	7,7 ± 5,8
Test Schirmera I (mm)	przed leczeniem	7,6 ± 3,6	6,5 ± 3,9	5,0 ± 2,9
	po leczeniu	7,5 ± 3,7	8,1 ± 4,5	5,0 ± 2,9
Wysokość menisku łzowego (mm) (lampa szczelinowa)	przed leczeniem	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	po leczeniu	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Wysokość menisku łzowego (mm) (K5M)	przed leczeniem	0,26 ± 0,09	0,27 ± 0,10	0,31 ± 0,07
	po leczeniu	0,29 ± 0,07	0,35 ± 0,14	0,36 ± 0,12*
NIKBT _{First} (s) (K5M)	przed leczeniem	7,06 ± 4,48	9,97 ± 3,56	8,21 ± 4,77
	po leczeniu	7,99 ± 5,83	9,35 ± 4,36	9,48 ± 5,42
NIKBT _{Av} (s) (K5M)	przed leczeniem	12,38 ± 3,93	13,25 ± 3,87	11,91 ± 4,26
	po leczeniu	14,11 ± 4,70	13,73 ± 4,25	13,68 ± 4,26
NTBUT (s) (E300)	przed leczeniem	10,8 ± 4,1	9,5 ± 4,1	9,3 ± 5,1
	po leczeniu	14,5 ± 4,9*	11,1 ± 3,4	14,6 ± 4,6*
TFSQ-A ₂ – szybkość destabilizacji powierzchni filmu łzowego	przed leczeniem	(1,06 ± 0,08)·10 ⁻³	(2,59 ± 3,55)·10 ⁻³	(1,31 ± 1,32)·10 ⁻³
	po leczeniu	(0,35 ± 0,82)·10^{-3*}	(0,65 ± 1,25)·10 ⁻³	(0,53 ± 0,93)·10 ⁻³

* Różnice statystycznie istotne w stosunku do wartości wyjściowej (p < 0,05).

niku po leczeniu. Uśredniony czas przzerwania filmu łzowego dla całego badanego obszaru rogówki (NIKBT_{Av}) wyniósł przed terapią odpowiednio dla grup 1., 2. i 3: 12,38 ± 3,93 s; 13,25 ± 3,87 s i 11,91 ± 4,26 s. We wszystkich grupach czas ten uległ nieznacznemu wydłużeniu (p > 0,05). Nieinwazyjny czas przzerwania filmu łzowego oszacowany na podstawie pomiarów za pomocą drugiego wideokeratoskopu (E300) wyniósł odpowiednio: NTBUT 10,8 ± 4,1 s; 9,5 ± 4,1 s i 9,3 ± 5,1 s. Po terapii preparatami sztucznych łez zarejestrowano znaczące wydłużenie czasu przzerwania w grupie 1. (NTBUT = 14,5 ± 4,9 s; p = 0,047) oraz w grupie 3. (NTBUT = 14,6 ± 4,6; p = 0,011). Szybkość postępującego pogarszania się jakości powierzchni filmu łzowego po momencie przzerwania filmu łzowego określonej za pomocą parametru TFSQ-A₂ została znacząco spowolniona po terapii jedynie w grupie 1. (p = 0,039). W pozostałych grupach również zaobserwowano polepszenie stabilności filmu łzowego, ale różnice po leczeniu nie były znaczące statystycznie: p = 0,066 (w grupie 2.) i p = 0,061 (w grupie 3.).

Warto podkreślić, że różnice pomiędzy poszczególnymi grupami przed rozpoczęciem terapii były nieznaczące we wszystkich badaniach okulistycznych i obiektywnych badaniach obrazowych. Wyjątek stanowi kwestionariusz OSDI, który wskazał znacząco niższy wynik w grupie 3. w porównaniu z grupą 1. (p = 0,047). Różnica pomiędzy tymi dwoma grupami została zachowana również po terapii (p = 0,02).

DYSKUSJA

ZSO jest wieloczynnikową chorobą, która wywołuje uciążliwy dyskomfort w oczach, a leczeniem pierwszego wyboru jest stosowanie kropli nawilżających. Głównym zadaniem kropli sztucznych łez jest przyniesienie ulgi pacjentowi oraz zmniejszenie objawów zapalnych powierzchni oka. Niniejsze badanie, pomimo pilotażowego charakteru, wskazuje, że zastosowanie badanych sztucznych łez doprowadziło do zmniejszenia objawów subiektywnych i obiektywnych u pacjentów z zespołem suchego oka, a stopień zmniejszenia objawów był różny w zależności od rodzaju stosowanych kropli. W przypadku objawów subiektywnych ocenianych na podstawie wywiadu z pacjentami największą poprawę zaobserwowano po stosowaniu sztucznych łez zawierających hydroksypropylocelulozę oraz dekspantenol. Hydroksypropyloceluloza jest jedną z pochodnych celulozy, które są stosowane jako substancje nawilżające w preparatach sztucznych łez. Skuteczność sztucznych łez zawierających pochodne celulozy w leczeniu ZSO została potwierdzona w wielu badaniach [16–18]. Właściwości mukoadhezyjne HPC i wysoka lepkość kropli zawierających HPC zapewniają długi czas kontaktu z powierzchnią oka. Preparaty te wykazują wysoką skuteczność w łagodzeniu objawów subiektywnych i obiektywnych suchego oka. Dekspantenol zawarty w badanym preparacie jest szeroko stosowany w dermatologii i posiada udowodnione podwójne działanie

na poziomie nabłonka: odbudowuje barierę nabłonkową oraz przyspiesza jego regenerację [19]. Dodatkowo, regeneracyjne działanie dekspantenolu może więc pozytywnie wpływać na wyższą subiektywną ocenę skuteczności leczenia w porównaniu z pozostałymi preparatami.

W celu ilościowej oceny poprawy symptomów suchego oka wykorzystano kwestionariusz OSDI, który został opracowany w celu szybkiej oceny nasilenia objawów podrażnienia powierzchni oka w przebiegu ZSO [11]. Ocenia on jednak ograniczoną ilość subiektywnych objawów suchego oka i nie obejmuje takich objawów jak np. łzawienie czy uczucie obecności ciała obcego. Pomimo to cechuje go dobra specyficzność (83%) oraz względna wrażliwość (60%). Ze względu na swoją prostotę jest często wykorzystywany w ocenie skuteczności leczenia zespołu suchego oka. W niniejszym badaniu wyniki kwestionariusza OSDI wskazały na znaczącą poprawę komfortu we wszystkich badanych grupach pacjentów. U osób stosujących preparaty zawierające trehalozę lub kwas hialuronowy poprawa ta stanowiła średnio ponad 50-procentowe obniżenie wartości OSDI. W grupie stosującej preparat zawierający hydroksypropylocelulozę i dekspantenol OSDI obniżyło się średnio o 36%. Obserwowane w wynikach kwestionariusza OSDI różnice pomiędzy poszczególnymi preparatami mogą wynikać z odmiennych właściwości badanych preparatów. Trehaloza oraz jej formy stosowane w formie kropli do oczu posiadają udowodnione działanie ochronne na komórki nabłonka rogówki [20, 21]. Ponadto trehaloza wykazuje działanie przeciwzapalne, pobudza nabłonkowanie [22], działa antyoksydacyjnie oraz chroni komórki nabłonka przed promieniowaniem UVB [23].

Kwas hialuronowy, podobnie jak w przypadku pochodnych celulozy, wykazuje mukoadhezyjność oraz lepkość, które istotnie wpływają na czas i skuteczność działania kropli [24]. Przeciwzapalne właściwości preparatów zawierających trehalozę oraz kwas hialuronowy [25] mogą decydować o nieco lepszej ocenie działania tych preparatów w kwestionariuszu OSDI. Należy jednak podkreślić, że grupy nie były homogenne i wyjściowy wynik OSDI był statystycznie niższy dla grupy 3. w porównaniu z grupą 1. i grupą 2. ($p < 0,05$) przed zastosowaniem leczenia. Na subiektywną ocenę komfortu mogło również wpłynąć to, że w grupie 2. żaden pacjent nie był wcześniej operowany z powodu zaćmy, natomiast w grupach 1. i 3. część pacjentów przebyła w przeszłości taką operację (tab. 2). Czas od przebytej operacji zaćmy był dłuższy niż 6 miesięcy, nie można jednak wykluczyć jego wpływu na wyniki kwestionariusza OSDI [26, 27]. Warto również zauważyć, że średni wiek pacjentów w grupie 1. był wyższy niż w 2 pozostałych badanych grupach, a w porównaniu z grupą 2. była to różnica statystycznie znacząca ($p = 0,02$).

Stopień barwienia rogówki fluoresceiną zmniejszył się we wszystkich badanych grupach, potwierdzając skuteczność

stosowanych preparatów sztucznych łez. Zieleni lizaminy barwi tylko komórki nabłonka z uszkodzoną błoną komórkową, niezależnie od obecności mucyny. Pomimo słabej korelacji barwienia spojówki zielenią lizaminy w łagodnym lub umiarkowanym ZSO z zaawansowaniem choroby [28] zmniejszenie barwienia spojówki zielenią lizaminy zaobserwowano w 2 grupach – stosującej trehalozę i kwas hialuronowy oraz sam kwas hialuronowy. Należy jednak zwrócić uwagę, że badane grupy pacjentów były w tym zakresie niehomogenne, ponieważ w grupie pacjentów przyjmujących preparat hydroksypropylocelulozy z dekspantenolem stwierdzono zdecydowanie mniejszy stopień zabarwienia zielenią lizaminy już przed rozpoczęciem badania.

Wysokość menisku łzowego mierzona za pomocą lampy szczelinowej, w odniesieniu do wysokości kalibrowanej szczeliny światła, jest badaniem o słabej powtarzalności [29]. Na wynik pomiaru wpływa czas, jaki upłynął od mruknięcia, pora dnia, wilgotność i temperatura powietrza, a także stopień oświetlenia [30]. Niemniej jest to najbardziej bezpośrednia metoda pomiaru objętości filmu łzowego. Jej dokładność i wartość diagnostyczną zwiększa zastosowanie cyfrowych metod pomiaru, w których wysokość menisku jest mierzona z zarejestrowanego obrazu za pomocą wykalibrowanej podziałki. W badanych przez nas grupach pacjentów zwiększenie wysokości menisku łzowego po leczeniu obserwowano tylko w pomiarach dokonywanych cyfrowo (wideokeratosem K5M), co potwierdza większą dokładność tej metody niż pomiary dokonywane w lampie szczelinowej.

Test Schirmera I bez znieczulenia określa refleksyjne wydzielanie łez, spowodowane obecnością paska bibuły (ciała obcego) w załamku spojówki. Test Schirmera I po znieczuleniu kroplami znieczulającymi powierzchnię oka uważa się za bardziej obiektywny i wiarygodny w diagnostyce ZSO, ponieważ odzwierciedla podstawowe wydzielanie łez [31]. W ZSO z przewagą niedoboru warstwy wodnej stosowanie preparatów sztucznych łez stanowi uzupełnienie tego niedoboru, nie ma jednak większego wpływu na podstawowe wydzielanie łez. Potwierdzają to wyniki naszych badań, w których wartość testu Schirmera I po znieczuleniu nie uległa znaczącej zmianie po okresie leczenia w żadnej badanej grupie.

Istotne wydłużenie FBUT obserwowano w grupie leczonej preparatem hydroksypropylocelulozy z dekspantenolem oraz w grupie leczonej preparatem trehalozy z HA. Raport DEWS II podkreśla jednak przewagę nieinwazyjnego badania czasu przzerwania filmu łzowego nad inwazyjnym badaniem FBUT w lampie szczelinowej, gdyż samo podanie fluoresceiny do worka spojówkowego może zaburzyć czas przzerwania filmu łzowego. W naszym badaniu nieinwazyjny czas przzerwania filmu łzowego był mierzony za pomocą 2 urządzeń (K5M i E300). Istotne wydłuże-

nie nieinwazyjnego czasu przerwania filmu stwierdzono w badaniu wideokeratoskopem (E300) w grupie leczonej preparatem hydroksypropylocelulozy z dekspantenolem oraz grupie leczonej preparatem z HA. Badanie drugim wideokeratoskopem (K5M) nie wykazało istotnego wydłużenia czasu przerwania filmu łzowego w żadnej z badanych grup.

Oba wideokeratoskopy dały dłuższy czas przerwania filmu łzowego w badanych grupach w porównaniu z FBUT, co jest zgodne z wynikami niektórych badań [32, 33]. Mimo że zasada pomiaru w obu wideokeratoskopach jest podobna, to jednak metoda analizy rejestrowanych obrazów opiera się na innych założeniach. Jest to główny możliwy powód różnych wyników wskazywanych przez oba instrumenty [34, 35]. Wyniki z obu instrumentów ściśle zależą od zastosowanej metody analizy obrazów i jej czułości na zniekształcenia odbitych okręgów Placido związanych z przerwaniem filmu łzowego. Llorens-Quintana i wsp. [34] pokazali, że oba instrumenty dają statystycznie różne wyniki czasu przerwania łzowego, gdy użyje się oprogramowania proponowanego przez producenta. W tej pracy do analizy obrazów pochodzących z E300 zastosowano autorski algorytm, podczas gdy do analizy obrazów z K5M wykorzystano komercyjny *software*. Ponadto ocenę NIBUT w wideokeratoskopie E300 oparto na analizie dynamiki powierzchni filmu łzowego. Zmiana dynamiki wskazywała moment przerwania i rozpoczęcie postępującego pogarszania się jakości powierzchni filmu łzowego. Ocena globalnej dynamiki filmu łzowego w całym pomiarze wydaje się mieć przewagę nad określeniem momentu pojawienia się zniekształceń we wzorze odbitym od powierzchni filmu łzowego, gdyż tylko za pomocą E300 otrzymano statystycznie znaczące wydłużenie nieinwazyjnego czasu przerwania filmu łzowego w 2 grupach (1. i 3.).

Ponadto warto zwrócić uwagę na parametr TFSQ-A₂ określający szybkość postępującego pogarszania się jakości powierzchni filmu łzowego. Parametr ten jest obliczany z wykorzystaniem wspomnianego wyżej nowatorskiego algorytmu, którego czułość na zmiany regularności i kontrastu dysków Placido jako efekt pocieniania filmu łzowego została potwierdzona w badaniach z udziałem użytkowników soczewek kontaktowych [13]. Zastosowana metoda analizy pozwala na ocenę dynamiki filmu łzowego, na którą rzadko zwraca się uwagę w praktyce klinicznej, a która może za-

wierać wiele cennych informacji o fizjologii filmu łzowego [36, 37]. Szybkość destabilizacji filmu łzowego mierzona za pomocą parametru TFSQ-A₂ uległa istotnemu spowolnieniu tylko w grupie leczonej preparatem hydroksypropylocelulozy z dekspantenolem. Dotychczasowe badania pokazały słabą zgodność i korelację pomiędzy tradycyjnym FBUT a nieinwazyjnym pomiarem [32, 38]. Możliwym powodem jest nie tylko stosowanie barwnika w teście fluoresceinowym, ale również zależność wyniku od rodzaju mrugnięcia, rozprzodzenia filmu łzowego po danym mrugnięciu, szczególnie warstwy lipidowej i zmęczenia pacjenta. W naszym eksperymencie pomiary kliniczne były przeprowadzane po co najmniej 30 min od zakończenia pomiarów nieinwazyjnych, aby zmniejszyć udział ostatniego czynnika na wynik pomiaru.

PODSUMOWANIE

Badanie skuteczności działania preparatów sztucznych łez było badaniem pilotażowym. 10-osobowe grupy okazały się za małe, aby wykazać wyższość jednego preparatu nad pozostałymi. W takim celu należałoby w przyszłości wykonać podobne badanie na większych grupach, które byłyby dodatkowo homogenne pod względem rozpoznania rodzaju ZSO oraz wartości wyjściowych ocenianych parametrów. Podsumowując, we wszystkich badanych grupach stwierdzono zmniejszenie objawów subiektywnych i obiektywnych zespołu suchego oka po leczeniu wybranymi kroplami sztucznych łez. Niezależnie od stosowanego preparatu znacząco poprawiły się komfort oraz stan nabłonka rogówki. Natomiast poprawa stabilności filmu łzowego zależała od rodzaju kropli i metody badawczej. W grupie osób leczonych preparatem hydroksypropylocelulozy z dekspantenolem zaobserwowano wyraźniejszą poprawę objawów subiektywnych niż w pozostałych grupach oraz istotną stabilizację filmu łzowego ocenianą za pomocą parametru TFSQ-A₂. Jest to nowy parametr, który wymaga w przyszłości weryfikacji na większej grupie pacjentów.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr inż. Dorota Szczęsna-Iskander

Katedra Optyki i Fotoniki, Politechnika Wrocławska
50-370 Wrocław, Wybrzeże Stanisława Wyspiańskiego 27
e-mail: dorota.szczesna-iskander@pwr.edu.pl

Piśmiennictwo

1. Craig JP, Nelson JD, Azar DT, et al. TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf* 2017; 15: 802-812.
2. Gulati S, Jain S. Ocular pharmacology of tear film, dry eye, and allergic conjunctivitis. *Handb Exp Pharmacol* 2017; 242: 97-118.
3. Nakamura M, Hikida M, Nakano T, et al. Characterization of water retentive properties of hyaluronan. *Cornea* 1993; 12: 433-436.
4. Gomes JA, Amankwah R, Powell-Richards A, et al. Sodium hyaluronate (hyaluronic acid) promotes migration of human corneal epithelial cells in vitro. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 821-825.
5. Cejka C, Kubinova S, Cejkova J. Trehalose in ophthalmology. *Histol Histopathol* 2019: 18082.

6. Chen W, Zhang X, Liu M, et al. Trehalose protects against ocular surface disorders in experimental murine dry eye through suppression of apoptosis. *Exp Eye Res* 2009; 89: 311-318.
7. Raczyńska K, Iwaszkiewicz-Bilikiewicz B, Stozkowska W, et al. Clinical evaluation of provitamin B5 drops and gel for postoperative treatment of corneal and conjunctival injuries. *Klin Oczna* 2003; 105: 175-178.
8. Lee R, Yeo S, Tun Aung H, et al. A greement of noninvasive tear break-up time measurement between Tomey RT-7000 Auto Refractor-Keratometer and Oculus Keratograph 5M. *Clin Ophthalmol* 2016; 10: 1785-1790.
9. Best N, Drury L, Wolffsohn JS. Clinical evaluation of the Oculus Keratograph. *Contact Lens Anterior Eye* 2012; 35: 171-174.
10. Fuller DG, Potts K, Kim J. Noninvasive tear breakup times and ocular surface disease. *Optom Vis Sci* 2013; 90: 1086-1091.
11. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, et al. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 615-621.
12. Whitcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, et al. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjogren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol* 2010; 149: 405-415.
13. Szczesna-Iskander DH, Alonso-Caneiro D, Iskander DR. Objective Measures of Pre-lens Tear Film Dynamics versus Visual Responses. *Optom Vis Sci* 2016; 93: 872-880.
14. Owsley C, Knoblauch K, Katholi C. When does visual aging begin? *Invest Ophthalmol Visual Sci* 1992; 33: 1414.
15. Armstrong RA. When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic Physiol Opt* 2014; 34: 502-508.
16. Maharana PK, Raghuwanshi S, Chauhan AK, et al. Comparison of the Efficacy of Carboxymethylcellulose 0.5%, Hydroxypropylguar Containing Polyethylene Glycol 400/Propylene Glycol, and Hydroxypropyl Methyl Cellulose 0.3% Tear Substitutes in Improving Ocular Surface Disease Index in Cases of Dry Eye. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2017; 24: 202-206.
17. Safarzadeh M, Azizzadeh P, Akbarshahi P. Comparison of the clinical efficacy of preserved and preservative-free hydroxypropyl methylcellulose-dextran-containing eyedrops. *J Optom* 2017; 10: 258-264.
18. Moshirfar M, Pierson K, Hanamaikai K, et al. Artificial tears potpourri: a literature review. *Clin Ophthalmol* 2014; 8: 1419-1433.
19. Proksch E, de Bony R, Trapp S, et al. Topical use of dexpantenol: a 70th anniversary article. *J Derm Treat* 2017; 28: 1-8.
20. Matsuo T. Trehalose protects corneal epithelial cells from death by drying. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 610-612.
21. Aragona P, Colosi P, Rania L, et al. Protective Effects of Trehalose on the Corneal Epithelial Cells. *ScientificWorldJournal* 2014: 717835.
22. Li J, Roubeyx C, Wang Y, et al. Therapeutic efficacy of trehalose eye drops for treatment of murine dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Mol Vis* 2012; 18: 317-329.
23. Čejková J, Ardan T, Čejka C, et al. Favorable effects of trehalose on the development of UVB-mediated antioxidant/pro-oxidant imbalance in the corneal epithelium, proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase induction, and heat shock protein 70 expression. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011; 249: 1185-1194.
24. Salzillo R, Schiraldi C, Corsuto L, et al. Optimization of hyaluronan-based eye drop formulations. *Carbohydrate Polymers* 2016; 153: 275-283.
25. Weigel PH, Baggenstoss BA. What is special about 200 kDa hyaluronan that activates hyaluronan receptor signaling? *Glycobiology* 2017; 27: 868-877.
26. Oh T, Jung Y, Chang D, et al. Changes in the tear film and ocular surface after cataract surgery. *Jpn J Ophthalmol* 2012; 56: 113-118.
27. Kohli P, Arya SK, Raj A, et al. Changes in ocular surface status after phacoemulsification in patients with senile cataract. *Int Ophthalmol* 2018; 39: 1-9.
28. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, et al. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 47: 4309-15.
29. Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea* 2004; 23: 272-285.
30. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, et al. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf* 2017; 15: 539-574.
31. Li N, Deng XG, He MF. Comparison of the Schirmer 1 test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *Int J Ophthalmol* 2012; 5: 478-481.
32. Downie LE. Automated tear film surface quality breakup time as a novel clinical marker for tear hyperosmolarity in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 7260-7268.
33. Lan W, Lin L, Yang X, et al. Automatic noninvasive tear breakup time (TBUT) and conventional fluorescent TBUT. *Optom Vis Sci* 2014; 91: 1412-1418.
34. Llorens-Quintana C, Szczesna-Iskander DH, Iskander DR. Unified approach to tear film surface analysis with high-speed videokeratoscopy. *J Opt Soc Am A* 2019; 36: B15-B22.
35. Wang M, Murthy PJ, Blades KJ, et al. Comparison of non-invasive tear film stability measurement techniques. *Clin Exp Optom* 2017; 101: 13-17.
36. Szczesna-Iskander DH. Post-blink tear film dynamics in healthy and dry eyes during spontaneous blinking. *Ocular Surf* 2018; 16: 93-100.
37. Yokoi N, Georgiev GA. Tear film-oriented diagnosis and tear film-oriented therapy for dry eye based on tear film dynamics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59: DES13-DES22.
38. Abdelfattah NS, Dastiridou A, Sadda SV, et al. Noninvasive imaging of tear film dynamics in eyes with ocular surface disease. *Cornea* 2015; 34(10): S48-S52.