

Utjecaj širine vjednoga rasporka na disfunkciju suznoga filma

Čović, Ana

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:776524>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ana Čović

**Utjecaj širine vjednoga rasporka na
disfunkciju suznoga filma**

DISERTACIJA



Zagreb, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ana Čović

**Utjecaj širine vjeđnoga rasporka na
disfunkciju suznoga filma**

DISERTACIJA

Zagreb, 2022.

Disertacija je izrađena u Klinici za očne bolesti, Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada: doc. dr. sc. Igor Petriček

Ovaj rad posvećujem suprugu Mateu te djeci Ivanu, Cviti i Juditi koji su me nesebično podržavali, pratili i ohrabivali na mom putu prema doktoratu znanosti i profesionalnom napredovanju. Bez vaše ljubavi, vjere i požrtvornosti, sve ovo ne bi bilo moguće.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Igoru Petričeku na stručnom mentorstvu, brojnim stručnim i životnim savjetima te poticajima za daljnje učenje i usavršavanje. Također, zahvaljujem i dr. sc. Martini Tomić na pomoći u statističkoj obradi i tumačenju rezultata te mnogobrojnim stručnim savjetima i ohrabrenju tijekom izrade ovog rada.

Zahvalna sam svim i suradnicima s Klinike za očne bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu Kliničkog bolničkog centra Zagreb, na pomoći tijekom istraživačkog dijela rada.

SADRŽAJ:

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. POVIJESNI PREGLED I DEFINICIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	2
1.2. PODJELA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	5
1.2.1. HIPOSEKRECIJSKO SUHO OKO	6
1.2.2. HIPEREVAPORATIVNO SUHO OKO.....	7
1.3. PATOFIZIOLOGIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	8
1.4. PREVALENCIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA U OPĆOJ POPULACIJI	9
1.5. RIZIČNI FAKTORI ZA RAZVOJ DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	11
1.6. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA SUZNOG FILMA.....	12
1.6.1. VAŽNOST SUZNOG FILMA U ZDRAVLJU OKA.....	12
1.6.2. RASPODJELA SUZA NA POVRŠINI OKA.....	14
1.6.3. STRUKTURA I DINAMIKA SUZNOG FILMA	15
1.6.3.1. Prekornealni suzni film	15
1.6.3.2. Lipidni sloj suznog filma.....	16
1.6.3.3. Stabilnost suznog filma.....	17
1.6.3.4. Osmolarnost suza	18
1.6.3.5. Ph suza.....	19
1.6.3.6. Granjanje suza	20
1.6.3.7. Evaporacija suza	21
1.6.3.8. Mukozno-vodeni sloj suznog filma.....	23
1.6.3.9. Proizvodnja i volumen suza	26
1.6.3.10. Eliminacija suza.....	27
1.7. DIJAGNOSTIČKE METODE DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	27
1.7.1. ANAMNEZA I UPITNICI.....	28
1.7.2. DIJAGNOSTIČKE METODE PROCJENE VIDNE FUNKCIJE I POREMEĆAJA VIDA	31
1.7.2.1. Kornealna topografija.....	32
1.7.2.2. Videokeratoskopija velike brzine	33
1.7.2.3. Valna aberometrija.....	33
1.7.2.4. Mjerenje funkcionalne vidne oštine	34
1.7.3. PREGLED VJEĐA	35
1.7.3.1. Pregled ruba vjeđe	36
1.7.3.2. Meibografija	36
1.7.3.4. Ekspresija Meibomovih žlijezdi	38

1.7.4.	PREGLED STRUKTURA OČNE POVRŠINE	38
1.7.4.1.	Hiperemija spojnice.....	38
1.7.4.2.	Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe.....	40
1.7.4.3.	Bojenje vitalnim bojama.....	41
1.7.4.4.	Impresijska citologija	43
1.7.4.5.	Procjena upale struktura očne površine	44
1.7.5.	PROCIJENA VOLUMENA SUZA	45
1.7.5.1.	Meniskometrija	45
1.7.5.2.	Schirmerov test	46
1.7.6.	PROCIJENA SASTAVA I KVALITETE SUZNOG FILMA	47
1.7.6.1.	Mjerenje osmolarnosti suznog filma.....	47
1.7.6.2.	Test granjanja suza	48
1.7.6.3.	Procjena lipidnog sloja suza interferometrijom	48
1.7.6.4.	Procjena stabilnosti suznog filma.....	51
1.7.7.	DIJAGNOSTIČKE METODE PROCJENE DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA - ZAKLJUČAK	57
2.	HIPOTEZA.....	60
3.	CILJEVI RADA.....	61
3.1.	OPĆI CILJ	61
3.2.	SPECIFIČNI CILJEVI	61
4.	MATERIJALI I METODE (ISPITANICI – UZORAK)	62
4.1.	ETIČKA NAČELA.....	62
4.2.	ISPITANICI	62
4.3.	MATERIJAL	63
4.4.	METODE.....	65
4.4.1.	REDOSLIJED I OPIS PREGLEDA	65
4.4.1.1.	Utvrđivanje prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma	65
4.4.1.2.	Mjerenje širine vjeđnog rasporka	66
4.4.1.3.	Procjena i evaluacija kliničkih znakova disfunkcije suznog filma	66
4.5.	STATISTIČKA OBRADA.....	70
5.	REZULTATI.....	72
5.1.	OPIS ISTRAŽIVAČKOG UZORKA	72
5.1.1.	DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA	72
5.2.	ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA	74
5.3.	SUBJEKTIVNI SIMPTOMI I KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	77
5.3.1.	SUBJEKTIVNI SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	77
5.3.2.	KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	79

5.3.2.1. Hiperemija spojnice (engl. <i>Cornea and contact lens research unit</i> ; CCLRU)	79
5.3.2.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma (engl. <i>Non-invasive tear break-up time</i> ; NIBUT) .	81
5.3.2.3. Ekspresija Meibomovih žlijezda	84
5.3.2.4. Invazivni test pucanja suznog filma (engl. <i>Tear break-up time</i> ; TBUT)	86
5.3.2.5. Bojanje rožnice fluoresceinom	89
5.3.2.6. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (engl. <i>Lid-parallel conjunctival folds</i> ; LIPCOF) .	90
5.4. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA I KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	92
5.4.1. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	92
5.4.2. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA S KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	97
5.4.2.1. Povezanost širine vjeđnog rasporka s hiperemijom spojnice	98
5.4.2.2. Povezanost širine vjeđnog rasporka s neinvazivnim testom pucanja suznog filma.....	99
5.4.2.3. Povezanost širine vjeđnog rasporka s nalazom ekspresije Meibomovih žlijezda	101
5.4.2.4. Povezanost širine vjeđnog rasporka s invazivnim testom pucanja suznog filma.....	103
5.4.2.5. Povezanost širine vjeđnog rasporka s bojanjem rožnice fluoresceinom	104
5.4.2.6. Povezanost širine vjeđnog rasporka s naborima spojnice paralelnima s rubom vjeđe .	106
5.5. LOGISTIČKA REGRESIJA.....	106
6. RASPRAVA.....	109
6.1. DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA	109
6.2. ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA	114
6.2.1. ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA I DOB.....	116
6.2.2. ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA I SPOL.....	117
6.2.3. ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA I ISPITIVANE SKUPINE	119
6.2.4. PONOVLJIVOST MJERENJA ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA.....	119
6.3. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	121
6.3.1. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA I DOB.....	122
6.3.2. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA I SPOL.....	123
6.4. KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA	124
6.4.1. HIPEREMIJA SPOJNICE (ENG. <i>CORNEA AND CONTACT LENS RESEARCH UNIT</i> ; CCLRU)	125
6.4.2. NEINVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA (ENG. <i>NON-INVASIVE TEAR BREAK-UP TIME</i> ; NIBUT)	125
6.4.3. EKSPRESIJA MEIBOMOVIH ŽLIJEZDI.....	127
6.4.4. INVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA (ENG. <i>TEAR BREAK-UP TIME</i> ; TBUT).....	128
6.4.5. BOJENJE ROŽNICE FLUORESCEINOM.....	129

6.4.6. NABORI SPOJNICE PARALELNI S RUBOM VJEĐE (ENG. <i>LID-PARALLEL CONJUNCTIVAL FOLDS</i> ; LIPCOF)	129
6.5. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA I KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	130
6.5.1. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	133
6.5.2. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA S KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA.....	136
6.6. LOGISTIČKA REGRESIJA.....	141
6.7. OGRANIČENJA ISTRAŽIVANJA.....	142
7. ZAKLJUČAK.....	143
8. KRATAK SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU.....	146
9. KRATAK SADRŽAJ NA ENGLLESKOM JEZIKU	147
10. POPIS LITERATURE.....	148
11. KRATKA BIOGRAFIJA	180

POPIS OZNAKA I KRATICA:

TFOS DEWS	eng. Tear Film and Ocular Surface Society Dry Eye Workshop – Internacionalna radna skupina za suho oko
ADES	eng. Asia Dry Eye Society – Azijsko društvo za suho oko
DED	eng. Dry eye disease – Bolest suhog oka
NEI	eng. National Eye Institute / Industry Dry Eye Workshop – Radna skupina za suho oko
TFOT	eng. Tear Film Oriented Therapy – Koncept liječenja bolesti suhog oka temeljen na suznom filmu
AAO	eng. The American Academy of Ophthalmology – Američka oftalmološka akademija
DED PPP	eng. Dry Eye Syndrome Preferred Practice Patterns – Priručnik terapijskih i dijagnostičkih postupaka bolesti suhog oka
ADDE	eng. Aqueous deficient dry eye – Hiposekrecijsko suho oko
EDE	eng. Evaporative dry eye – Hiperevaporativno suho oko
MGD	eng. Meibomian gland dysfunction – Disfunkcija Meibomovih žlijezdi
LFU	eng. The Lacrimal Functional Unit – Sustav za kontrolu dinamike suza
MAPK	eng. Mitogen activated protein kinase – Mitogenom aktivirana proteinska kinaza
NFkB	eng. Nuclear factor Kb – Nuklearni faktor Kb
MMP-9	eng. Matrix metalloproteinase 9 - Matriks metaloproteinaza 9
MUC5AC	Mucin 5AC
IFN-γ	eng. Interferon gamma – Interferon gama
EGF	eng. Epidermal growth factor – Epidermalni faktor rasta
Ig A	Imunoglobulin A
OSDI	Ocular Surface Disease Index – Upitnik za suho oko
DEQ-5	eng. Dry Eye Questionnaire – Upitnik za suho oko
IDEEL	eng. Impact of Dry Eye on Everyday Life - Upitnik za suho oko

DEQS	eng. Dry Eye-Related Quality-of-Life Score - Upitnik za suho oko
SANDE	eng. Symptom Assessment in Dry Eye – Upitnik za suho oko
BCVA	eng. Best- corrected visual acuity – Najbolje korigirana vidna oštrina
SRI / SAI	eng. Surface regularity index / Surface asymmetry index - Indeks površinske regularnosti i asimetrije
TSAS	eng. Tear film stability analysis system – Računalni sustav za analizu stabilnosti suznog filma
IVAD	eng. The Interblink Interval Visual Acuity - Metoda mjerenja smanjenja vidne oštrine između treptaja
HOA	eng. Higher-Order Aberration – Aberacije višeg reda
PBBT	eng. Post-Blink Blur Time – Test perioda vremena u kojem dolazi do zamućenja linije najbolje korigirane vidne oštrine
HSV	eng. High speed videokeratoscopy – Videokeratoskopija velike brzine
OCT	eng. Optical coherent tomography - Optička koherentna tomografija
LIPCOF	eng. Lid parallel Conjunctival Folds – Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe
CCLRU	eng. Cornea and Contact Lens Research Unit – Skala za stupnjevanje hiperemije spojnice
VBR	eng. Validated bulbar redness – Skala za stupnjevanje hiperemije spojnice
TBUT	eng. Tear Break-up time – Invazivni test pucanja suznog filma
NIBUT	eng. Non-invasive Tear Break-up time – Neinvazivni test pucanja suznog filma
LED	eng. Light Emitting Diode – Svjetleća dioda

1. UVOD I SVRHA RADA

Intaktnost i stabilnost suznog filma su od iznimnog značenja za zdravlje oka i očne površine. Njegova uloga u patogenezi i razvoju disfunkcije suznog filma (bolesti suhog oka) posebno je naglašena u izvještaju Internacionalne radne skupine za suho oko iz 2017. godine (TFOS DEWS II). Ključna odrednica definicije disfunkcije suznog filma prema toj radnoj skupini je upravo gubitak homeostaze suznog filma (1). No, zašto je suzni film toliko važan i koje su mu uloge? Osim što pruža mehaničku i antimikrobnu zaštitu rožnice i površine oka te osigurava vlažnost i prehranu rožnice, suzni film primarno predstavlja i refraktivnu površinu oka ključnu za optimalnu kvalitetu vida. Ipak, glavne funkcije suznog filma su njegova stabilnost te sprečavanje evaporacije i isušivanja očne površine.

Disfunkcija suznog filma je prvenstveno simptomatska bolest s raznolikom kliničkom slikom koju karakteriziraju brojni simptomi poput poremećaja vida, boli ili nelagode. Prema novijim spoznajama, simptomi disfunkcije suznog filma su najčešći razlog posjeta oftalmologu s učestalošću od čak 33 % (2).

Smatra se kompleksnim javnozdravstvenim problemom zbog visoke prevalencije u općoj populaciji (5 – 50 % odrasle populacije) te značajnog financijskog opterećenja zdravstvenog sustava (3). Godišnji direktni socioekonomski troškovi vezani uz dijagnostiku i liječenje disfunkcije suznog filma u SAD-u su iznosili 3,8 milijarde američkih dolara, a indirektni koji se prvenstveno odnose na smanjenu radnu sposobnost, čak 55,4 milijarde (4).

Poznato je da su pojačana evaporacija suza i posljedična hiperosmolarnost ključne patofiziološke značajke disfunkcije suznog filma u njene obje glavne etiološke kategorije (1, 5). Isto tako, širina vjeđnog rasporka u primarnom položaju oka uvjetuje otvorenost oka i izloženost vanjskim uvjetima, te se stoga može promatrati u kontekstu intrinzičnih faktora rizika za razvoj disfunkcije suznog filma. Prepoznata je kao značajan faktor rizika za oštećenje površine oka kod bolesnika s distiroidnom orbitopatijom, te su u tom području provedena brojna istraživanja (5).

No, što je sa zdravim pojedincima? Možemo li prepoznati širinu vjeđnog rasporka kao mogućeg faktora rizika za razvoj disfunkcije suznog filma u zdravoj populaciji i u

svakodnevnoj kliničkoj praksi? Stoga su svrha i cilj ovog rada ispitati utjecaj širine vjeđnog rasporka u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed kod zdravih ispitanika na disfunkciju suznog filma, i to u istoj dobnoj i spolnoj skupini.

1.1. POVIJESNI PREGLED I DEFINICIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Definicija disfunkcije suznog filma je kroz povijest prolazila kroz različite promjene zbog prije svega složenosti etiologije, patofizioloških mehanizama, dijagnostike i mogućnosti liječenja, no i novih spoznaja u današnjoj kliničkoj, translacijskoj i bazičnoj znanstvenoj literaturi. Iako uvriježen u stručnoj literaturi, pojam *suhog oka* danas se smatra patofiziološki neprikladnim jer etiološki upućuje isključivo na deficit suza. S obzirom da se uvelike koristi u citiranoj literaturi iz povijesnih razloga, u ovom radu koristit će se kao sinonim disfunkciji suznog filma, gdje se i spominje u citiranoj literaturi.

Koncept deficijencije suza je prvi puta opisao Schirmer 1903. godine u svom radu *Studien zur physiologie und pathologie der tranen-absonderung und tranenabfuhr* (6). 1933. godine švedski oftalmolog Henrik S.C. Sjögren opisuje suho oko kao *keratoconjunctivitis sicca* (7). Godinama nakon toga, pojam suhog oka se odnosio na deficijenciju vodenog sloja suza. Povijesno se smatralo da je bolest suhog oka (eng. *Dry eye disease*; DED) uzrokovana smanjenom proizvodnjom suza ili nestabilnošću suznog filma. No, danas postoje dokazi da abnormalnosti površine oka mogu uzrokovati poremećaj u dinamici svih komponenti suza.

Prvu definiciju bolesti suhog oka 1995. godine predložila je Radna skupina za suho oko (eng. *National Eye Institute/Industry Workshop*; NEI) i ona je glasila:

Suho oko je poremećaj suznog filma koji nastaje zbog manjka suza ili pretjeranog isparavanja suza što uzrokuje oštećenje interpalpebralnog dijela površine oka i povezano je sa simptomima očne nelagode (8).

Ova definicija je istaknula važnost kvalitete suznog filma pored količine suza kao uzroka bolesti suhog oka.

Kasnije se naglašava važnost disfunkcije suznog filma što je vidljivo i u Brewitt-ovoj definiciji iz 2001. godine:

Suho oko je bolest površine oka koja se može pripisati poremećajima prirodne funkcije i zaštitnog mehanizma vanjskog oka, što dovodi do nestabilnog suznog filma pri otvorenom oku (9).

2006. godine 17 međunarodnih stručnjaka za suho oko je oformilo Delphi panel grupu s ciljem preporuke novih terapijskih algoritama. Grupa predlaže novi termin „*dysfunctional tear syndrome*” (disfunkcijski sindrom suza), te zaključuje da bi se strategija liječenja trebala oslanjati na simptome i znakove bolesti suhog oka, a ne dijagnostičke testove (10). Novi termin ističe važnost ključnih značajki suznog filma, a to su kvaliteta i kvantiteta suza.

Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS) 2007. godine predlaže svoju prvu definiciju bolesti suhog oka na temelju trogodišnjeg rada niza stručnjaka:

Suho oko je multifaktorijalna bolest suza i površine oka koja rezultira simptomima nelagode, poremećaja vida te nestabilnosti suznog filma sa mogućim oštećenjem površine oka. Popraćena je povišenom osmolarnošću suznog filma te upalom površine oka (11).

Prvi puta je entitet suhog oka označen kao bolest sa multifaktorijalnom etiologijom. Osim toga, novina je i uključivanje prolaznog poremećaja vida kao simptoma suhog oka.

Azijsko društvo za suho oko (eng. *The Asia Dry Eye Society*; ADES) 2016. godine predlaže sljedeću definiciju suhog oka:

Suho oko je multifaktorijalna bolest koju karakterizira nestabilnost suznog filma i koja uzrokuje različite simptome i/ili poremećaj vida, potencijalno udruženih sa oštećenjem površine oka (12).

Ključne odrednice ove definicije su isticanje važnosti nestabilnosti suznog filma u patofiziologiji suhog oka, kao i poremećaja vida kao simptoma bolesti suhog oka. Upravo su te odrednice bile okvir za formiranje algoritma liječenja bolesti suhog oka temeljenog na suznom filmu (eng. *Tear Film Oriented Therapy*; TFOT).

2015. godine 77 % međunarodnih stručnjaka Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II) predlažu reviziju prvotne definicije koju i donose 2017. godine. Ta je definicija danas i najprihvaćenija s obzirom na značajni napredak u razumijevanju patofiziologije i dinamike suznog filma. Po prvi puta se ističe multifaktorijalna priroda bolesti suhog oka te gubitak homeostaze suznog filma kao ključnog patofiziološkog čimbenika u razvoju bolesti suhog oka.

TFOS DEWS II Definition and Classification Report (2017):

*Dry eye is a multifactorial disease of the ocular surface characterized by a loss of homeostasis of the **tear film**, and accompanied by ocular symptoms, in which tear film instability and hyperosmolarity, ocular surface inflammation and damage, and neurosensory abnormalities play etiological roles. (Suho oko je multifaktorijalna bolest površine oka karakterizirana gubitkom homeostaze suznog filma i koja je popraćena prisutnošću očnih simptoma pri čemu nestabilnost i hiperosmolarnost **suznog filma**, upala i oštećenje površine oka te neurosenzorne abnormalnosti imaju ključnu etiološku ulogu) (1).*

Važno je istaknuti da su mogući uzroci gubitka homeostaze suznog filma **abnormalnosti vjeđa i treptanja** u kombinaciji s oštećenjima površine oka ili deficijencija sastava suza (5, 13).

2018. godine Američka akademija za oftalmologiju (eng. *The American Academy of Ophthalmology*; AAO) predlaže nove smjernice za klinički rad i dijagnostiku sindroma suhog oka (eng. *Dry Eye Syndrome Preferred Practice Patterns*; DED PPP) (14). Ova definicija također naglašava važnost nestabilnosti suznog filma kao patognomične karakteristike bolesti suhog oka.

Skupina priznatih međunarodnih stručnjaka nakon prisustva na četiri velika oftalmološka kongresa (godišnji sastanci Američke akademije za oftalmologiju 2016., 2017. i 2018. godine te Svjetski oftalmološki kongres 2018. godine u Barceloni) donosi 2020. godine novu kliničku definiciju bolesti suhog oka kao dogovorno rješenje svih dosad predloženih definicija (15).

“Dry eye is a multifactorial disease characterized by a persistently unstable and/or deficient tear film causing discomfort and/or visual impairment, accompanied by variable degrees of ocular surface epitheliopathy, inflammation and neurosensory

abnormalities.” (Suho oko je multifaktorijalna bolest koju karakterizira konstantno nestabilan i/ili deficitan suzni film te koji uzrokuje simptome nelagode i/ili oštećenja vida, udruženih sa različitim stupnjem epiteliopatije očne površine, upale i neurosenzornih abnormalnosti).

1.2. PODJELA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Klasifikacija bolesti suhog oka prema NEI/Industry Report iz 1995. godine se svodi u dvije primarne kategorije:

1. suho oko zbog deficita suza (eng. *Tear-deficient dry eye*; TDDE)
2. evaporativno suho oko (eng. *Evaporative dry eye*; EDE) (8).

Radna skupina za suho oko (TFOS DEWS Report) 2007. godine predložila je svoju prvu klasifikaciju prema kojoj je termin „*tear-deficient*” zamijenjen specifičnijim terminom „*aqueous deficient*”. Prema toj radnoj skupini, bolest suhog oka se također dijeli u 2 primarne kategorije:

1. suho oko zbog deficita vodenog sloja (eng. *Aqueous deficient dry eye*; ADDE)
2. evaporativno suho oko (11).

S obzirom da se evaporacija suza događa i u fiziološkim uvjetima, McCulley i sur. predlažu patofiziološki prikladniji termin hiperevaporativno suho oko. Također, uvode i termin hiposekrecijsko suho oko (16).

Manjkavost ove klasifikacije je u preklapanju između dvije glavne etiološke kategorije, a što je vidljivo u subklasifikacijskoj shemi. Prema toj podjeli, pozicija pojedinih stanja bila je diskutabilna po pitanju glavnog patofiziološkog mehanizma. Primjer je Sjögrenov sindrom koji je prema izvještajima iz 1995. i 2007. godine klasificiran isključivo kao hiposekrecijsko suho oko. Prema današnjim spoznajama, Sjögrenov sindrom etiološki sadržava i evaporativnu komponentu zbog pridružene disfunkcije Meibomovih žlijezdi, a koja dominantno utječe na lipidni sloj suza (5, 17, 18). Glavna svrha subklasifikacijske sheme je prvenstveno odabir odgovarajućeg plana liječenja.

Nova revidirana klasifikacija bolesti suhog oka koju je objavila Internacionalna radna skupina za suho oko 2017. godine (TFOS DEWS II), naglašava važnost kontinuiteta u etiološkoj klasifikaciji pri čemu se dvije etiološki dominantne kategorije hiposekrecijsko i hiperevaporativno suho oko, međusobno ne isključuju (1). Revidirana klasifikacija je u skladu s predloženom novom definicijom bolesti suhog oka prema kojoj su ključni elementi u postavljanju dijagnoze prisutnost simptoma suhog oka i pridruženost znakova bolesti površine oka.

Pri tomu je jasno postavljena granica između bolesti suhog oka i ostalih bolesti površine oka, kao i u slučajevima gdje postoji prisutnost simptoma bolesti suhog oka bez pridruženih znakova bolesti površine oka, i obrnuto. Nadalje, predložen je i klinički algoritam u procjeni simptoma bolesti suhog oka te smjernice za određivanje znakova bolesti površine oka. Bolest suhog oka prema revidiranoj definiciji i klasifikaciji uključuje prisutnost simptoma i znakova bolesti površine oka, te se jasno može razlikovati od ostalih bolesti površine oka uz pomoć trijažnih pitanja i pomoćnih testova (19). Glavni zaključak etiološke klasifikacije je da se dvije dominantne etiološke kategorije uglavnom ne promatraju kao dva odvojena entiteta, već kao kontinuum (19, 20). Epidemiološki i klinički dokazi danas pak upućuju na pretežitu zastupljenost evaporativne komponentne (8, 14, 15). Iako postoji hiposekrecijsko suho oko bez prisutnosti evaporativne komponente i obrnuto, sve je više dokaza da s progresijom bolesti suhog oka obje komponentne postaju izražene (17).

Unatoč gore navedenim dokazima i složenoj patofiziološkoj podlozi prema kojoj danas možemo govoriti o hibridnim oblicima bolesti suhog oka, ipak se u današnjoj svakodnevnoj kliničkoj praksi uglavnom koristimo pojednostavljenom etiološkom podjelom koja datira još od 1995. godine, a prema kojoj razlikujemo hiposekrecijsko i hiperevaporativno suho oko (8).

1.2.1. HIPOSEKRECIJSKO SUHO OKO

Hiposekrecijsko suho oko je posljedica smanjene sekrecije suza u uvjetima normalne razine evaporacije vodene komponente suznog filma.

Dijeli se u dvije kategorije: hiposekrecijsko suho oko u sklopu Sjögrenova sindroma i ne-Sjögrenovo hiposekrecijsko suho oko (5).

Sjögrenov sindrom je kronična autoimuna sistemska bolest koju karakteriziraju infiltracija egzokrinih žlijezdi imunološkim stanicama kao i sistemske komplikacije uzrokovane proizvodnjom autoantitijela, nakupljanjem imunoloških kompleksa i limfocitnom infiltracijom brojnih organa. Iako se u stručnoj literaturi razlikuje primarni od sekundarnog oblika sa pridruženim sistemskim autoimunim bolestima poput reumatoidnog artritisa, Wegenerove granulomatoze i sistemskog eritematoidnog lupusa, u današnjim smjernicama ta je distinkcija napuštena. Prevalencija primarnog Sjögrenova sindroma u SAD-u je 0,6 - 1 % . Predominantno se javlja u žena i to u omjeru 9 : 1 prema muškarcima (21). Ključne kliničke manifestacije su bolest suhog oka i suhoća usta. Ti su simptomi primarno posljedica destrukcije i infiltracije žlijezda slinovnica i suzne žlijezde T i B limfocitima, dendritičkim stanicama i makrofagima. Simptomi i znakovi su slični u obje kategorije, a uključuju poremećaj vida, osjećaj pijeska i nelagode u očima te nestabilnost suznog filma, pozitivan nalaz bojenja rožnice i spojnice fluoresceinom, gubitak vrčastih stanica i epitelnu metaplaziju.

Disfunkcija Meibomovih žlijezdi je česta pojava kod bolesnika sa Sjögrenovim sindromom što ukazuje na istovremenu pojavu obje etiološke kategorije bolesti suhog oka koji se u literaturi opisuje kao hibridni oblik (17).

Ne-Sjögrenovo hiposekrecijsko suho oko nastaje kao posljedica oštećenja i ablacije suzne žlijezde zbog niza stečenih i nasljednih bolesti i stanja kao što su involutivne promjene suzne žlijezde, upala, infiltracija, zračenje, kongenitalna alakrima te oštećenja refleksnog luka koji kontrolira sekreciju suza (5).

1.2.2. HIPEREVAPORATIVNO SUHO OKO

Hiperevaporativno suho oko nastaje u uvjetima pojačane evaporacije uz prisutnost uredne sekrecije suza. Javlja se kod stanja povezanih s vjeđama kao što su disfunkcija Meibomovih žlijezdi (eng. *Meibomian gland dysfunction*; MGD) i abnormalnosti treptaja (intrizični oblik) te kod stanja povezanih sa očnom površinom (rizični faktori su primjerice nedostatak mucina te nošenje kontaktnih leća) (5).

Opstruktivna forma disfunkcije Meibomovih žlijezdi je najčešći uzročnik hiperevaporativnog suhog oka (22). Hiperkeratinizacija epitela izvodnih kanalića, keratinizirani stanični debris kao i pojačana viskoznost lipida meibuma uzrokuju opstrukciju ušća i izvodnih kanalića Meibomovih žlijezdi. Posljedično ti procesi dovode do atrofije i gubitka Meibomovih žlijezdi. Njihova je funkcija pod snažnim utjecajem spolnih hormona, ali i dobi. Hormonalni disbalans u vidu smanjene produkcije androgenih hormona je rizični faktor za razvoj disfunkcije Meibomovih žlijezdi i posljedičnog hiperevaporativnog suhog oka (23, 24). Opstrukcija ušća dovodi do smanjene sekrecije meibuma i lipida u suzni film što uzrokuje stanjenje lipidnog sloja suza i nestabilnost suznog filma te povećanje evaporacije vodenog sloja suza sa razvojem simptoma i znakova suhog oka (25, 26). Iako je disfunkcija Meibomovih žlijezdi dobro poznati i učestali poremećaj, još uvijek postoje prijepori vezani uz definiciju, klasifikaciju, dijagnostiku i liječenje ovog poremećaja.

Ostali česti uzroci hiperevaporativnog oka su poremećaju vezani uz nepotpuno zatvaranje i deformacije vjeđa te povećanje vjeđnog rasporka i proptoza oka, potom poremećaji koji uzrokuju smanjeno treptanje kao što su Parkinsonova bolest i progresivna oftalmoplegija, alergijske bolesti oka, nedostatak vitamina A, primjena nekih sistemskih i lokalnih lijekova (obostrana lokalna anestezija) (5, 27).

1.3. PATOFIZIOLOGIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Ključna patofiziološka podloga hiperevaporativnog i hiposekrecijskog suhog oka je hiperosmolarnost suznog filma (11, 13). S obzirom da je hiperosmolarnost suza isključivo posljedica evaporacije i da bez evaporacije nema ni hiperosmolarnosti, suho oko neovisno o etiološkoj podjeli uvijek ima i evaporativnu komponentu. Zato je za evaporativno suho oko patofiziološki prikladniji naziv hiperevaporativno suho oko kako bi se naglasila uloga pojačane evaporacije (16). Hiperosmolarnost suznog filma potiče niz upalnih i imunoloških procesa koji dovode do slabljenja međustaničnih sveza (eng. *tight junctions*) i gubitka epitelne barijere na strukturama očne površine. Stresna reakcija na epitelnim stanicama aktivira proteinsku kinazu aktiviranu mitogenom (eng. *Mitogen activated protein kinase*; MAPK) i nuklearni faktor Kb (eng. *Nuclear factor Kb*; NFkB) koji dovode do kaskadne aktivacije niza upalnih citokina, proapoptotičkih faktora

i proteaza uključujući i matriks metaloproteinazu 9 (MMP-9). U konačnici, ti medijatori dovode do oštećenja epitelnog glikokaliksa te gubitka vrčastih i epitelnih stanica. Aktivacija staničnih T-limfocita kao odgovor na upalu potiče produkciju niza medijatora upale. To sve skupa dovodi do stanjenja i nestabilnosti suznog filma koji pak dodatno pogoršavaju osmolarnost suznog filma i time se završava začarani krug (eng. *Vicious Circle*) (28).

Okolišni čimbenici i osobne navike također doprinose razvoju hiperosmolarnosti suza. To su prvenstveno vlažnost i temperatura zraka, brzina vjetra te osobni faktori kao što su frekvencija treptanja, **širina vjeđnog rasporka** i položaj pogleda (5).

1.4. PREVALENCIJA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA U OPĆOJ POPULACIJI

Prema epidemiološkom izvještaju Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS; Epidemiology subcommittee report) iz 2007. godine, prevalencija bolesti suhog oka bila je između 5 i 30 % u populaciji starijih od 50 godina (18).

Međutim, ključni problemi epidemioloških studija su manjak standardizacije u definiciji i klasifikaciji disfunkcije suznog filma, kao i nepostojanje validiranih dijagnostičkih testova ili kombinacije testova za postavljanje dijagnoze bolesti suhog oka. Iz tog razloga su i rezultati istraživanja različiti među regijama i populacijama.

Novi epidemiološki izvještaj iz 2017. godine (TFOS DEWS II) ukazuje na prevalenciju bolesti suhog oka između 5 i 50 % među studijama koje su se temeljile na prisutnosti simptoma bolesti suhog oka sa ili bez pridruženih znakova, i to u odnosu na dob i spol. Studije kod kojih se dijagnoza temeljila isključivo na znakovima suhog oka, objavile su pak višu prevalenciju, i to do 75 % u određenim populacijama (3). Prevalencija bolesti suhog oka prema populacijskim studijama temeljenima na simptomima i znakovima bolesti suhog oka, bila je između 8,7 i 30,1 % (29 - 33).

Meta-analiza izabranih populacijskih studija utvrdila je da prevalencija bolesti suhog oka raste linearno s dobi, s tim da je povećanje prevalencije kroz desetljeće izraženije među studijama temeljenima na znakovima bolesti suhog oka. Većina studija objavila

je značajno višu prevalenciju simptomatskog suhog oka kod žena u odnosu na muškarce, i to 1,33 do 1,74 puta višu prevalenciju (30 - 32, 34 - 37), osim dvije studije iz Kine i Mongolije koje nisu dolazale značajnu razliku među spolovima (38, 39). Suprotno tome, studija iz Singapura izvijestila je o značajno nižoj prevalenciji (0,6 puta) kod žena (40). Unatoč heterogenosti studija zbog različitih metodologija i opsežnosti, ipak je usporedbom moguće zaključiti da je simptomatsko suho oko općenito učestalije kod žena, kao i da je prevalencija u Azijata (20 do 52,4 %) viša u odnosu na bijelce (29, 34, 35, 38, 39). Zaključak je donesen meta-analizom 537 velikih međunarodnih kohortnih epidemioloških studija objavljenih između 2005. i 2015. godine. Analiza je provedena na osnovu podataka različitih studija koje su se temeljile na različitim metodologijama i dijagnostičkim kriterijima bolesti suhog oka, uključujući simptome i znakove bolesti suhog oka, učestalost i izraženost samo simptoma suhog oka, ali isto tako i pacijentov samoizvještaj o suhom oku kao i dijagnosticirane slučajeve od strane liječnika.

Dana i suradnici su 2019. godine objavili rezultate velike epidemiološke studije MHS u SAD-u prema kojoj je ukupna prevalencija bolesti suhog oka u svim dobnim skupinama (od 2 godine do 80+), pa i među djecom 5,28 % (41). Studija je temeljena na analizi baze podataka dostupne medicinske dokumentacije preko 10 milijuna korisnika vojnog zdravstvenog sustava u periodu od 2003. do 2015. godine. Uključujući kriteriji su bile kombinacije dijagnoza, terapijskih postupaka ili recepata koji se povezuju sa suhim okom. U toj je studiji pokazano da je ukupna prevalencija među ženama bila 2 do 3 puta veća nego među muškarcima, i to u svim dobnim skupinama (7,8 % vs. 2,96 %). Također, pokazano je da prevalencija bolesti suhog oka raste s dobi, počevši od najranije životne dobi (0,20 % za dobnu skupinu od 2 do 17 godina te 11,66 % za skupinu 50+). Zanimljivost ove studije je da je po prvi puta dokazan trend rasta incidencije (0,6 do 0,9 % ukupno) i prevalencije bolesti suhog oka (0,8 do 3 %) kroz vrijeme, kao i da rast incidencije bolesti suhog oka počinje već u ranoj odrasloj dobi (0,2 - 0,3 % u skupini 18 - 39 godina do 1 - 1,6 % u skupini 50+).

I ova je studija potvrdila rezultate prethodnih istraživanja u SAD-u, prema kojima prevalencija bolesti suhog oka raste s dobi (42 - 45) te je viša kod žena (42 - 46). Važno je istaknuti da je MHS studija jedna od rijetkih koje su uključile mlađe sudionike kao i djecu. Još dvije velike epidemiološke studije su istraživale prevalenciju bolesti suhog oka među mlađim sudionicima prema dobnim skupinama (33, 36). Obje studije

su izvijestile o nešto nižoj prevalenciji simptomatskog suhog oka u skupini od 20 do 40 godina (10 – 20 %).

Iz ovog pregleda možemo zaključiti da su rezultati heterogeni u različitim populacijama i regijama zbog različitosti metodologija i definicija bolesti suhog oka. Dokaz tomu su nekonzistentnost između simptoma i znakova bolesti suhog oka (18). Osim slabe standardizacije te nedostatka jasno definiranih dijagnostičkih kriterija za provođenje kliničkih testova (47), razlozi heterogenosti studija su u činjenici da svaki dijagnostički test ispituje određene, a ne sve karakteristike bolesti suhog oka, ali isto tako i u varijabilnosti u osjetljivosti na bol, potom smanjenju osjetljivosti sa starenjem i progresijom bolesti, te u postojanju psihosomatske komponente kod simptomatskog suhog oka (48). Slaba povezanost prevalencije simptomatske bolesti i prevalencije bolesti dijagnosticirane prema znakovima suhog oka, može ukazivati na činjenicu da velik broj ljudi vjerojatno ima asimptomatsku bolest. Osim toga, razlike u prevalenciji simptomatske i dijagnosticirane bolesti suhog oka među spolovima postaju izraženije nakon 50-te godine (3). Te su činjenice uvjetovale izbor metodologije ovog doktorskog rada. Nadalje, većina provedenih studija odnosila se na populaciju starijih od 40 godina. S obzirom da bolest suhog oka pogađa sve dobne skupine pa tako i djecu, u budućnosti bi se trebale provoditi velike epidemiološke studije u svim dobnim skupinama s naglaskom na mlađu populaciju. Visoka prevalencija bolesti suhog oka u općoj populaciji ukazuje na značajan socioekonomski utjecaj te bolesti na društvo i javnozdravstveni sustav, kao i na kvalitetu života.

1.5. RIZIČNI FAKTORI ZA RAZVOJ DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Analizom niza opservacijskih studija, Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II) 2017. godine je u svom epidemiološkom izvještaju prepoznala niz rizičnih faktora za razvoj disfunkcije suznog filma.

To su: spol, dob, rasna pripadnost, disfunkcija Meibomovih žlijezdi, nošenje kontaktnih leća, hematopoetska transplantacija matičnih stanica, Sjogrenov sindrom, klimatske promjene i okolišni faktori, uporaba ekrana i računala, nutritivni faktori, manjak vitamina A, afektivni i somatoformni faktori, nasljedni i genetički faktori, faktori vezani

uz životni stil, socioekonomski status, konzumacija alkohola i kofeina, pušenje, alergije, autoimune bolesti, kardiovaskularne bolesti, dijabetes, infekcija virusima hepatitis B i C, HSV, HIV, EBV, potom razacea, sarkoidoza, bolesti štitne žlijezde, psihijatrijske bolesti, depresija, anksioznost, PTSP, kronična bol, migrena, poremećaj spavanja, hormonalni faktori uključujući i androgenu insuficijenciju, hormonalna nadomjesna terapija, menopauza, trudnoća, uporaba oralnih kontraceptiva, disfunkcija jajnika i menstrualne nepravilnosti, uporaba Botox-a, korištenje lijekova kao što su antidepressivi, antipsihotici, antihistaminici, anksiolitici, oralni beta-blokeri, kolinergici, oralni diuretici, izotretinoin, potom radioterapija, kemorapija, pterigij, nekorrigirane refraktivne greške, kirurški zahvati na oku uključujući operacije katarakte, refraktivne zahvate i keratoplastiku, te infekcija parazitom Demodex (3).

Najkonzistentniji rizični faktori su spol i dob, kao što je prethodno objašnjeno. Većina velikih populacijskih studija je u zaključcima utvrdila višu prevalenciju bolesti suhog oka kod žena (30 - 32, 36, 43, 49-53), iako kod manjeg broja studija nije dokazana značajna povezanost te bolesti i ženskog spola (38 - 40, 53, 54). Isto tako, primijećeno je povećanje prevalencije bolesti suhog oka sa životnom dobi (30, 31, 33, 34, 38, 42, 43, 45, 49 - 51, 55), dok s druge strane manji broj studija nije pronašao značajnu povezanost bolesti suhog oka i dobi (35, 37, 40, 56, 57). Osim toga, etnička pripadnost se također može smatrati značajnim rizičnim faktorom s obzirom da je prevalencija bolesti suhog oka kod Azijata bila 1,5 do 2,2 puta veća nego među bijelcima (29, 34, 35, 38, 39). Različitost i brojnost navedenih rizičnih faktora za razvoj disfunkcije suznog filma ne začuđuje s obzirom na činjenicu da suzni film i površina oka čine veliku i povezanu funkcionalnu jedinicu na koju mnoštvo faktora može utjecati.

1.6. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA SUZNOG FILMA

1.6.1. VAŽNOST SUZNOG FILMA U ZDRAVLJU OKA

Suzni film je kompleksna i visokospecijalizirana tekućina s brojnim biokemijskim i biofizičkim svojstvima čije su karakteristike i međusobne interakcije, kao i utjecaj na kliničke manifestacije disfunkcije suznog filma, još uvijek predmet brojnih in vivo i in vitro istraživanja.

Današnja saznanja su bitno drukčija od povijesnih iz sredine prošlog stoljeća kada se smatralo da je suzni film jednostavna struktura sastavljena od tri različita i međusobno odvojena sloja; mucina, vode i elektrolita te lipida. Značajni napori su uloženi u razumijevanje biologije i dinamike suznog filma. Jer, suzni film jest dinamička struktura, i to podložna stalnim promjenama i stresu kroz sklonost isušivanju i evaporaciji suza. Noviji koncept razumijevanja strukture, dinamike i funkcioniranja suznog filma svodi se na saznanje da je suzni film dinamička struktura unutar sustava za kontrolu sekrecije, distribucije i ekskrecije suza (eng. *The Lacrimal Functional Unit*; LFU), a čija je uloga ključna u održanju homeostaze suznog filma i zdravlja struktura očne površine. Kao integrirani dio tog sustava, suzni film je konstantno izložen brojnim utjecajima okoliša i osobnim faktorima koji mogu narušiti njegovu funkciju i poremetiti stabilnost.

LFU čine vjeđe, strukture očne površine (rožnica, spojnica, vrčaste stanice i Meibomove žlijezde), glavna i pomoćne suzne žlijezde (Wolfring i Krause) te senzorna i autonomna inervacija putem facijalnog živca (58). Senzorna trigeminalna inervacija epitelnih stanica očne površine uključujući rožnicu, spojnicu i rub vjeđa, čini aferentni krak refleksnog luka. Eferentni krak čine parasimpatička i simpatička sekretomotorna vlakna koja inerviraju glavnu i pomoćne suzne žlijezde, Meibomove žlijezde i spojnične vrčaste stanice. Upravo su ta vlakna odgovorna za sekreciju svih komponentni suznog filma (59). Motorna vlakna inerviraju orbikularni mišić u kontroli treptanja.

Brojne su uloge suznog filma. Primarno, preokularni suzni film formira glatku refraktivnu površinu koja je dio optičkog sustava oka i na kojoj se prvo lome zrake svjetlosti pri ulazu u oko. Stoga optička kvaliteta retinalne slike između ostalog ovisi i o stabilnosti suznog filma te pravilnoj raspodjeli suza na očnoj površini. Smanjena kvaliteta i/ili kvantiteta suznog filma uzrokuju pojavu nepravilnosti u zakrivljenosti površine suznog filma i posljedično pojavu aberacija višeg reda što u konačnici dovodi do smanjene optičke kvalitete retinalne slike te smanjene kontrastne osjetljivosti. Suzni film, osim toga osigurava adekvatnu vlažnost rožnice te djeluje kao prva linija obrane od mikrobnih infekcija, kao i mehanička zaštita struktura očne površine od vanjskih utjecaja. Kako bi se osigurala adekvatna optička uloga, površina suznog filma mora biti pravilna i zaglađena (60).

1.6.2. RASPODJELA SUZA NA POVRŠINI OKA

Suze su na otvorenom oku raspodijeljene u tri odjeljka:

1. Preokularni suzni film - pokriva rožnicu i bulbarnu spojnicu
2. Spojnična vreća - uključuje forniks i retrotarzalni prostor
3. Gornji i donji suzni menisk (13).

Prekornealni suzni film prati konture rožnice, slojevite je građe i obično je visoke stabilnosti (61). Debljina prekornealnog suznog filma kod zdravih pojedinaca je prosječno oko 3 μm (2 - 5,5 μm) prema različitim istraživanjima i različitim neinvazivnim metodama mjerenja (interferometrija, optička koherentna tomografija, laserska iluminacija) (61 - 64). Visoka površinska napetost vode i nepravilnosti spojnice kao površine, razlozi su zašto se ne mjeri debljina prebulbarnog suznog filma (65). Stoga je važno napomenuti da na debljinu suznog filma bitno utječe i najmanja nepravilnost površine rožnice (0,5 μm) (66). Preokularni suzni film eliminira se iz oka putem ekskretornog sustava, evaporacijom i apsorpcijom.

Suzni menisci se nalaze u kutu između očne jabučice i ruba gornje ili donje vjeđe. Pretežito ih čini vodena komponenta suznog filma. Sadrže 70 - 90 % ukupne količine suza. Formiraju ih sile površinske napetosti suza koje nastaju pri treptaju (13). Negativan hidrostatski tlak koji je odgovoran za njihovu konkavnu površinu, sprečava ekskreciju vodene komponente u punktume pa je drenaža suza ograničena na prve dvije sekunde treptaja (67). Kratko nakon treptaja dolazi do izolacije mukozno-vodene komponente i odvajanja od gornjeg i donjeg meniska (68, 69). To je ujedno i područje najtanjeg suznog filma koja se vidi kao „crna linija” ili zona smanjene fluorescencije. Za razliku od vodene komponente, lipidni sloj suza ostaje intaktan pri treptaju (70). Lipidni sloj smanjuje površinsku napetost između zraka i površine suznog filma što omogućuje njegovo nesmetano širenje preko površine oka sa svakim treptajem. Ipak, različite dijagnostičke pretrage koje koriste tehnologiju interferencije utvrdile su da lipidni sloj pri disperziji nije svugdje jednake debljine. Osim toga, suzni film je konstantno izložen različitim intrizičnim i ekstrizičnim faktorima koju potiču evaporaciju i isušivanje očne površine te posljedični razvoj disfunkcije suznog filma. Stoga, suzni film da bi ostao stabilan mora konstantno odolijevati naporima evaporacije. Vjeruje se

da je upravo lipidni sloj suznog filma odgovoran za sprečavanje evaporacije (71, 72). Ipak, sama priroda toga sloja i njegove interakcije s mukozno-vodenom komponentom ostaju i dalje predmet brojnih istraživanja.

1.6.3. STRUKTURA I DINAMIKA SUZNOG FILMA

1.6.3.1. Prekornealni suzni film

Suzni film je tanki transparentni sloj tekućine koja prekriva vanjsku mukozalnu površinu oka. Prosječne je debljine 3 μm te prosječnog volumena 3 μl (73). To je složena i dinamička struktura brojnih elemenata čija su biofizička i biokemijska svojstva te brojne interakcije ključ stabilnosti suznog filma i odraz homeostaze svih struktura očne površine i zdravlja oka. Prvotno, struktura suznog filma opisivana je kao jednostavna struktura tri međusobno odvojena sloja: unutrašnjeg mukoznog, srednjeg vodenog i površinskog tankog lipidnog sloja. Prema toj teoriji koju je davne 1946. godine predstavio Wolf, mukozni sloj je opisan kao sloj koji prekriva površinu oka i smanjuje hidrofobnost epitelnih stanica. Uloga vodenog sloja bila je osiguravanje vlažnosti i adekvatne osmolarnosti te doprema hranjivih tvari i antimikrobnih proteina, dok je uloga lipidnog sloja opisana kao sprečavanje evaporacije i prelijevanja vodenog sloja preko ruba vjeđa (74, 75). Današnja istraživanja ukazuju na bitno drugačiju stvarnost i kompleksnost patofiziologije suznog filma o kojoj još uvijek ne znamo sve. Osim brojnih patoloških stanja, važno je uzeti u obzir i čitav niz ostalih faktora koji mogu modificirati biokemijska i biofizička svojstva suznog filma. Mnoštvo istraživanja je posvećeno nositeljima kontaktnih leća kao i utjecaju monitora na strukturu i funkciju suznog filma, no i u tom je aspektu je čitav niz nejasnoća (76).

Iako se trilaminarna struktura suznog filma i dalje često koristi zbog svoje jednostavnosti i praktičnosti, novija istraživanja ukazuju na smanjenje koncentracije mucina od epitela prema vodenom sloju (77). Stoga je danas općenito prihvaćena teorija o suznom filmu kao zasebnoj funkcionalnoj i dinamičnoj jedinici dvostruke strukture koju čine mukozno-vodeni sloj i površinski tanki lipidni sloj. Osim toga, mukozno-vodeni sloj se smatra jednim slojem i to u formi gela, pa je stoga prihvatljiviji termin mukozno-vodeni gel (78).

1.6.3.2. Lipidni sloj suznog filma

Lipidni sloj suza prvenstveno potječe od sekreta Meibomovih žlijezdi. Smatra se da humani meibum osigurava oko 90 % lipidnog sloja suza. Treptanje potiče izlučivanje meibuma kompresijom ušća Meibomovih žlijezdi koje se nalaze anteriorno od mukokutane granice ruba gornje i donje vjeđe i njegovo širenje preko mukozno-vodenog sloja preokularnog suznog filma potaknuto silama površinske napetosti. Stanjenje lipidnog sloja dodatno pojačava površinsku napetost (79). Sekretija meibuma je pod utjecajem neuralnih, vaskularnih i hormonalnih faktora. Meibomove žlijezde su kao velike lojne žlijezde pod snažnim utjecajem androgenih hormona. Pokazano je da je nedostatak androgenih hormona rizični faktor za razvoj disfunkcije Meibomovih žlijezdi i posljedičnog hiperevaporativnog suhog oka (23, 24, 33). Također, androgeni mogu utjecati na sastav lipida i proteina meibuma (80). Stoga ne čudi što je taj poremećaj učestaliji kod žena. Broj aktivnih Meibomovih žlijezdi opada s dobi. Obata i sur. dokazali su pozitivnu korelaciju starenja i gubitka epitelnih acinarnih stanica Meibomovih žlijezdi (81).

Meibum čine 95 % nepolarni lipidi te 5 % amfipatski lipidi. Nepolarnu komponentu čine pretežito voštani esteri (30 - 50 %) i esteri kolesterola (30 - 45 %) te u malom postotku i trigliceridi (2 %) (82 - 84). Ostatak čine slobodni kolesterol i fosfolipidi (84). Prosječna količina meibuma unutar vjeđnog rezervoara je 30 puta veća od količine lipida prisutnih na površini suznog filma (85). Osim toga, sastav i udio lipida u meibumu je sličan onom u suzama (84, 86). Iznimku čine fosfolipidi iz meniska čije je podrijetlo još uvijek predmet brojnih rasprava. Meibum se nalazi u tekućem stanju pri fiziološkoj temperaturi tijela. Intervali tališta meibuma kreću se prema različitim studijama od 19,5 do 32,9 °C ili od 10 do 40 °C što je u rasponu fizioloških temperatura površine oka (87, 88). Problemi stoga nastupaju zimi kada temperatura vjeđa zbog vanjskih uvjeta padne ispod točke tališta što može dovesti do prekida sekretije meibuma i posljedične pojačane evaporacije suza. Ekspresija meibuma se postiže jednostavnim manualnim pritiskom na rub vjeđa. Najizraženija je nazalno te opada prema temporalno (89).

McCulley i Shine su lipidni sloj suza opisali kao bifazičnu strukturu u kojoj se visokostrukturirani polarni lipidi ponašaju kao surfaktant između hidrofilnog mukozno-vodenog sloja i nepolarnih lipida (90). Osim toga, polarni lipidi imaju ulogu nositelja

nepolarne frakcije lipida (87). Debljina lipidnog sloja izmjerena metodom interferometrije iznosi prosječno 42 nm (91).

Lipidni sloj suza smanjuje površinsku napetost suznog filma u doticaju sa zrakom što omogućuje njegovo širenje očnom površinom. Teza prema kojoj je lipidni sloj suznog filma najzaslužniji za sprečavanje evaporacije suza, u zadnje vrijeme postaje predmetom rasprava zbog rezultata nedavno provedenih in vitro istraživanja prema kojima meibum ili umjetna mješavina lipida, mogu smanjiti evaporaciju suza za tek do 8 % (25, 71, 72, 92). Ipak, kompletna biofizika i biokemija lipidnoga sloja još uvijek nisu u potpunosti poznati. Vrlo je vjerojatno da se određeni lipidi ponašaju kao surfaktant u doticaju mukozno-vodenim slojem, no nije posve poznato da li je njihovo podrijetlo iz lipidnog sloja ili drugih struktura oka. In vitro provedena istraživanja idu u prilog gore navedenim tvrdnjama, s obzirom da je dokazano da se lipidi iz meibuma šire preko mukozno-vodene subfaze i sprečavaju kolaps suznog filma sa stanjivanjem (93). Širenje lipidnog sloja je kod zdravih ljudi u početku iznimno brzo i to 10 nm/s, potom se usporava i stabilizira nakon otprilike jedne sekunde do idućeg treptaja (94, 95). Lipidni sloj se brzo komprimira pri treptaju, ali i ubrzano širi u fazi otvaranja vjeđa (71). Kod pacijenata sa suhim okom, to je širenje sporije i slabije organizirano (95) sa smanjenom stabilnošću suznog filma što ukazuje na gubitak stabilnosti na molekularnoj razini (96). Polarni lipidi smanjuju površinsku napetost suznog filma u doticaju sa zrakom što povećava brzinu njegova širenja. Napolarni lipidi pak povećaju kompresivnost i stabilnost suznog filma, a promjene strukture i odnosa lipida dovode do smanjenih viskoelastičnih svojstava suznog filma (97).

1.6.3.3. Stabilnost suznog filma

Najvažnija funkcija suznog filma je održavanje njegove stabilnosti na površini oka. Iako iznimno tanak, i to prosječno svega 3 μm , preokornealni suzni film ostaje dugo vremena stabilan, do jedne minute. Procjena stabilnosti suznog filma je ključna za procjenu funkcije i integriteta suznog filma. Stabilan preokularni suzni film predstavlja okosnicu zdravlja oka i kvalitete optičkog sustava oka. S obzirom da voda ima visoku površinsku napetost, biofizička svojstva suznog filma moraju biti slična podlozi na kojoj se šire, a površinska napetost u doticaju sa zrakom smanjena. Stoga je neobično što tako tanak sloj tekućine ne kolabira uslijed svih dinamičkih promjena kojima je suzni

film izložen, a to su kompresija i dekompresija suznog filma sa treptanjem, širenje suznog filma po očnoj površini i u konačnici, konstantna izloženost evaporaciji u intervalima između dva treptaja.

Širenje suznog filma je u početku iznimno brzo, i to do 10 mm/s (0,1 do 0,04 m/s). Kasnije se njegovo širenje usporava da bi se konačno stabilizirao nakon otprilike jedne sekunde i ostao stabilan unatoč treptajima, do jedne minute. Kod pacijenata sa disfunkcijom suznog filma, širenje suznog filma je usporeno, a trenutak destabilizacije i pucanja suznog filma može nastati nakon jedne sekunde ili odmah nakon otvaranja vjeđa (94, 95). Rolando i sur. smatraju da je uzrok pucanja suznog filma gubitak intermolekularne stabilnosti suznog filma (96). Osim toga, imbalance u omjeru polarnih i nepolarnih lipida smanjuje viskoelastična svojstva suznog filma što doprinosi njegovoj bržoj destabilizaciji (97). Promjene kvalitete suznih lipida također mogu uzrokovati destabilizaciju i pucanje suznog filma.

1.6.3.4. Osmolarnost suza

Mjerenje osmolarnosti suza kao biofizičkog svojstva suznog filma, pruža uvid u ravnotežu složenoga procesa dinamike suznog filma i to proizvodnje, evaporacije, drenaže i apsorpcije suza. Bilo koje odstupanje u tom dinamičnom procesu uzrokuje promjene osmolarnosti suza i posljedično disfunkciju suznog filma (98). Stoga je hiperosmolarnost kao ključna patofiziološka podloga disfunkcije suznog filma, uvrštena u definicije Internacionalne radne skupine za suho oko još od 2007. godine (11). Osim toga, promjene u osmolarnosti suznog filma su patofiziološke odrednice u obje etiološke kategorije disfunkcije suznog filma te poticajni faktor u već opisanom kaskadnom procesu upale očne površine. Hiperosmolarnost i nestabilnost suznog filma doprinose razvoju kroničnog upalnog neurogenog procesa te razvoju težih kliničkih oblika disfunkcije suznog filma (5).

Srednja vrijednost osmolarnosti suza kod zdravih ljudi iznosi prosječno 300 mOsm/L (99 - 101). Smatra se da dob, spol, rasa kao i hormonalne fluktuacije nemaju klinički značajnog utjecaja na osmolarnost suza kod zdravih ljudi (100 - 103). S druge strane, osmolarnost suza je uvjetovana koncentracijom elektrolita iz mukozno-vodenog sloja suznog filma (104). Zanimljivo je da osmolarnost suza odgovara izmjerenim

vrijednostima iz plazme kako kod zdravih pojedinaca, tako i kod pacijenata sa suhim okom ili sistemskom dehidracijom (105). S obzirom da postoji pozitivna korelacija između pojačane evaporacije, smanjene stabilnosti i osmolarnosti suznog filma, te je osmolarnost uostalom i veća kod pacijenata sa disfunkcijom suznog filma te izraženija kod onih sa klinički težim stupnjem bolesti, hiperosmolarnost suza može se smatrati objektivnim znakom disfunkcije suznog filma kao i pokazateljem težine bolesti (100, 106). Osmolarnost prekornealnog suznog filma kod zdravih ljudi je diskretno veća od osmolarnosti izmjerene u donjem suznom menisku. Ta je korelacija posve logična ukoliko se uzme u obzir odnos volumena suza prema rasprostranjenoj površini (107).

Također, suzni film je konstantno izložen evaporaciji što u uvjetima nestabilnosti i brzog stanjivanja suznog filma može dovesti do razvoja hiperosmolarnosti koja prema matematičkim modelima simulirane osmolarnosti očne površine u treptajnom intervalu, može iznositi i oko 1900 mOsm/L u područjima pucanja suznog filma (108, 109). Stoga su kod disfunkcije suznog filma varijacije osmolarnosti prema mjestu mjerenja i dodatno izražene.

Ipak, s obzirom na preklapanja u izmjerenim vrijednostima kod zdravih pojedinaca i onih sa suhim okom, još uvijek nema dogovora oko graničnih vrijednosti. Eperjesi i sur. pak smatraju da se promjena u osmolarnosti suznog filma od 33 mOsm/L može smatrati klinički značajnom (110). Štoviše, i same varijacije u izmjerenim vrijednostima osmolarnosti suza mogu predstavljati biljeg za nestabilnost suznog filma (100, 107).

1.6.3.5. Ph suza

Normalan ph suza se prema različitim istraživanjima kreće u rasponu od 5,2 do 8,6 (13). Dosadašnja istraživanja i mjerenja su pretežito učinjena na suzama prikupljenima iz donjeg meniska, a čiji rezultati ne moraju odgovarati in vivo dobivenim vrijednostima na preokularnoj površini. Yamada i sur. su uspoređujući te dvije vrijednosti dokazali blagu alkalizaciju od 0,1 jedinice u korist sakupljenih suza (111). Spol nema utjecaja na ph suza, no dob, treptanje i refleksno suzenje mogu dovesti do promjena ph suza kod zdravih pojedinaca. Osim toga, ph suza je podložan diurnalnim varijacijama kao i promjenama u slučaju produljene otvorenosti oka ili pri mjerenju sa zatvorenim očima (112). Kod pacijenata sa disfunkcijom suznog filma postoje različita

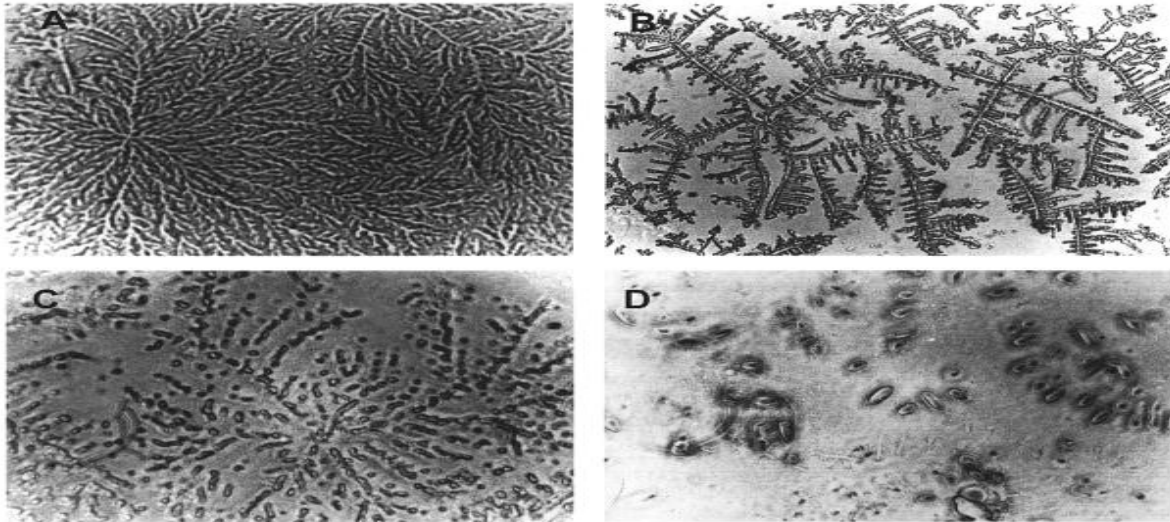
istraživanja sa upitnim razlikama u odnosu na zdravu populaciju. Khurana i sur. nisu dokazali statistički značajnu razliku u izmjerenim pH vrijednostima kod 100 nasumičnih pacijenata sa suhim okom u odnosu na zdrave kontrole. Ipak, dokazana je diskretna alkalizacija od 0,1 jedinice kod ispitanika sa suhim okom (113). Sličan obrazac su objavili i Norn i sur. pri čemu je alkalizacija od 0,2 jedinice bila vidljiva tek pri mjerenjima na oba oka što može ukazivati na slabu pouzdanost tog parametra u dijagnostici bolesti suhog oka (114). U oba istraživanja, mjerenje je izvedeno uz pomoć mikroelektrode postavljene u donji forniks.

1.6.3.6. Granjanje suza

Prikupljanje i sušenje suza na mikroskopskom stakalcu dovodi do karakterističnog obrasca kristalizacije suza, a koji se opisuje kao granjanje suza. Test granjanja suza je laboratorijski test koji za sada nema širu kliničku uporabu.

Testiranje se provodi prikupljanjem 1 do 4 μ l suza uz pomoć mikropipete koje se potom razvijaju preko mikroskopskog stakalca i suše na sobnoj temperaturi te vlažnosti zraka od oko 50 %. Tako pripremljeno stakalce promatra se mikroskopom, a uzorak uspoređuje prema različitim gradacijskim sustavima.

Najčešće je u uporabi Rolandov gradacijski sustav u kojemu je obrazac granjanja suza opisan kroz 4 stupnja (115). Spol, rasa kao niti hormonalne fluktuacije nemaju utjecaja na obrazac granjanja suza. Osim toga, pokazano je da su diurnalne varijacije gotovo beznačajne. S druge strane, dob, nošenje kontaktnih leća i testiranje neposredno nakon buđenja imaju utjecaj na kristalizaciju suza i smanjeno granjanje neovisno o funkciji i stabilnosti suznog filma (116 - 120). Obrazac granjanja suza je kod pacijenata sa suhim okom nepravilan, smanjene gustoće i naposljetku bez vidljivog granjanja (Slika 1.) (121).



Slika 1. Rolandov gradacijski sustav granjanja suza od 1 (A) do 4 (D) (115).

1.6.3.7. Evaporacija suza

Evaporacija suza je sastavni dio složenog procesa dinamike suza. Stopa evaporacije suza može biti indikator stabilnosti suznog filma (122). Brojna su istraživanja dokazala povezanost veće stope evaporacije i stanjenja suznog filma sa simptomima bolesti suhog oka (122 - 124). Normalna stopa evaporacije suza se kreće u rasponu od 19 do 21 g/m²/h (125 - 128). Ovisno o metodi mjerenja, ta stopa može biti i drukčije izražena. Prema različitim studijama, normalna stopa evaporacije suza je relativno niska i kreće se u rasponu između 0,04 i 0,16 μ L/min (122, 128). Razlike u objavljenim mjerenjima su posljedica ovisnosti o ambijentalnoj temperaturi te vlažnosti zraka. Mjerenja su pretežito učinjena na modificiranim dermatološkim instrumentima (129). Prvi komercijalno dostupni i prenosivi instrument konstruiran za mjerenje stope evaporacije u oftalmologiji je VapoMeter (124). Mjerenja ovim instrumentom nisu ovisna o protoku zraka u prostoru, niti je potrebna svakodnevna kalibracija. Dvije istraživačke grupe su koristeći ovaj instrument dokazale povećanu stopu evaporacije suza kod pacijenata sa hipo- i hipertireozom, te kod pušača u odnosu na zdrave kontrole (124, 130). Smatra se da je povećana evaporacija suza posljedica nestabilnosti sloja nepolarnih lipida (131). Utjecaj dobi i spola na stopu evaporacije kod zdravih pojedinaca nije posve jednoznačan. Nekoliko istraživanja je pokazalo veću stopu evaporacije kod starijih ispitanika i kod žena, dok kod drugih nisu utvrđene značajne dobne ili spolne razlike (132 - 134). Smanjena vlažnost zraka te povećanje

izložene očne površine ubrzavaju evaporaciju (135, 136). Goto i sur. su dokazali značajno više stope evaporacije kod pacijenata sa opstruktivnom formom disfunkcije Meibomovih žlijezdi u odnosu na zdrave kontrole, mjerenih mikrobalansnim senzorom ($5,8 \pm 2,7 (10^{-7}) \text{ g/cm}^2$ vs. $4,1 \pm 1,4 (10^{-7}) \text{ g/cm}^2$) (122). Kimball i sur. su dokazali značajno manje stanjenje prekornealnog suznog filma između 2 treptaja kod zdravih pojedinaca, kao i kod pacijenata sa suhim okom koji su nosili zaštitne naočale u odnosu na ispitanike koji su bili izloženi vanjskim kontroliranim uvjetima. Time se ukazuje na utjecaj evaporacije na stanjenje suznog filma (137).

Mnoštvo je istraživanja dokazalo pozitivnu korelaciju između abnormalnosti lipidnog sloja suza i povećane evaporacije (25, 91, 71, 72). Štoviše, Craig i Tomlison su zaključili da se evaporacija povećava čak 4 puta u slučaju odsutnog ili nekonfluentnog lipidnog sloja (72). Osim toga, zaključuju da je utjecaj stabilnosti i intaktnosti lipidnog sloja na sprečavanje pojačane evaporacije važniji od same debljine lipidnoga sloja. Na tom tragu, King-Smith i sur. su dokazali da se evaporacija ubrzava pri izrazito stanjenom lipidnom sloju i to pri debljinama od 20 – 25 nm, što potvrđuje tezu o važnosti frakcije polarnih lipida u održanju evaporacijske barijere (91). Uz to, ukapavanje lipidne emulzije je dovelo do povećanja debljine lipidnoga sloja, ali nije utjecalo na stopu stanjenja suznog filma (91, 138).

Suprotno tome, povećana ekspresija meibuma je imala pozitivan utjecaj na smanjenje evaporacije kod pacijenata sa suhim okom, kao i kod zdravih kontrola pri različitim rasponima vlažnosti zraka (139). Takav efekat, pak, nije bio vidljiv u in vitro uvjetima pri primjeni humanog ili animalnog meibuma, kao niti umjetnih emulzija, što dovodi do zaključka da je sprečavanje evaporacije posljedica složenih interakcija među slojevima suznog filma, a ne isključivo lipidnog sloja (92). Doprinosa lipidnog sloja u sprečavanju evaporacije je prema in vitro istraživanjima, tek oko 6 - 8% (92, 140, 141). Nešto bolji rezultat je vidljiv tek pri nefiziološki visokim vrijednostima debljine meibuma, i to 7 – 23 % (92, 142).

Rantamaki i sur. su u in vitro uvjetima dokazali da na evaporaciju može utjecati ili uljna komponentna velike mase ili pak monosloj kondenziranih specifičnih lipida sastavljen od alkoholnih dugih lanaca ili estera voska (143).

1.6.3.8. Mukozno-vodeni sloj suznog filma

Mukozno-vodeni sloj prekornealnog suznog filma je kompleksna struktura koju karakteriziraju brojne interakcije s lipidnim slojem. U formi je gela zbog prisutnosti mucina iz vrčastih stanica, pa je fiziološki prikladniji naziv mukozno-vodeni gel (144). Danas je poznato da se koncentracija mucina smanjuje od epitela prema vodenom sloju (77). U ovom radu, oba sloja će se prikazati i opisati odvojeno zbog jednostavnosti i praktičnosti.

1.6.3.8.1. Mukozni sloj suznog filma

Mukozni sloj čine mucini, imunoglobulini, urea, soli, glukoza, leukociti, stanični debris i enzimi (145). Mucini su glikoproteinske dugolančane molekule sa značajnom glikozilacijom pri čemu glikanski lanci čine najveći dio mase mucina (50 – 80 %) (146). Postoje dva tipa mucina: transmembranski i sekretorni mucini. Transmembranski mucini formiraju glikokaliks na površini epitelnih stanica i većinom su prisutni u rožnici i spojnici. Oni omogućavaju širenje suza preko očne površine tako što povećavaju adhezijske sile vode. Sekretorni mucini su pak odgovorni za formu gela mukozno-vodenog sloja suznog filma (147). Također, imaju ulogu čistača suza na način da skupljaju stanični debris koji se potom odstranjuje iz oka kroz nazolakrimalni kanal pri treptaju. Većinu okularnih mucina sintetiziraju vrčaste stanice spojnice kao i epitelne stanice rožnice i spojnice, te manjim dijelom i acinarne stanice suzne žlijezde (145-147). Mucini prvenstveno imaju zaštitnu ulogu tako što doprinose stvaranju epitelne barijere te sprečavaju vezanje patogena na očnu površinu. Osim toga, oni podmazuju i vlaže očnu površinu te doprinose stabilnosti suznog filma. Najvažniji mucin na očnoj površini je MUC5AC. Prisutnost tog gel formirajućeg mucina je određen brojem konjuktivalnih vrčastih stanica. Najveća koncentracija vrčastih stanica je u forniksima, a osobito u donjem nazalnom forniksu uz suzne kanaliće. Osim toga, vrčaste stanice su prisutne i uz rub vjeđa, i to u većem broju nego li u tarzalnoj spojnici što objašnjava njihovu ulogu u smanjenju trenja između vjeđa i rožnice te bulbarne spojnice pri treptaju. Produkcija mucina je iznimno važna za održanje homeostaze očne površine i stabilnosti suznog filma. Njihova je sekrecija kontrolirana parasimpatičkom inervacijom kroz M2 i M3 muskarinske receptore. Nekoliko studija je pokazalo smanjenu sekreciju MUC5AC kod pacijenata sa suhim okom (149, 150). Osim toga, razine MUC5AC su bile niže kod pacijenata sa izraženijim simptomima suhog oka u odnosu na one s

blagim simptomima. Značajno manji broj konjuktivalnih vrčastih stanica i posljedična smanjena sekrecija MUC5AC, dokazana je kod pacijenata sa hiposekrecijskim suhim okom i nestabilnim suznim filmom, i to kao posljedica upale i povišenih vrijednosti citokina IFN- γ (151). Isto tako, broj konjuktivalnih vrčastih stanica je značajno smanjen kod pacijenata sa atopijskim keratokonjunktivitisom (152). Sukladno tim saznanjima, nekoliko je istraživačkih grupa dokazalo značajno manju količinu MUC5AC u suzama pojedinaca kod produljenog boravka pred ekranima (više od 7h), kao i kod pušača (153, 154).

1.6.3.8.2. Vodeni sloj suznog filma

Debljina vodenog sloja iznosi oko 6,5 do 7,5 μm . Vodeni sloj sadrži vodu, elektrolite, proteine, peptidne faktore rasta, imunoglobuline, citokine, vitamine, antimikrobne proteine i hormone. Produkt je sekrecije glavne suzne žlijezde te pomoćnih Krause i Wolfring suznih žlijezdi (155).

Elektroliti iz vodenog sloja su ioni natrija, kalija, magnezija, kalcija, kloridi, bikarbonati i fosfatni ioni. Koncentracija elektrolita u suznom filmu određuje njegovu osmolarnost. Koncentracija natrija u suzama je jednaka onoj u serumu, dok je koncentracija kalija 5 do 7 puta veća nego li u serumu. Ioni natrija, kalija i klorida reguliraju osmotski protok tekućine između rožnice i suznog filma te osiguravaju prozirnost rožnice. Bikarbonati pak, reguliraju pH suza (112).

Do sada je identificirano preko 1500 proteina u ljudskim suzama te preko 200 peptida koji potječu iz tih proteina (156). To su primjerice albumin, imunoglobulini, proteini koji vezuju željezo, komplement, histamin i aktivator plazminogena. Brojnost proteina u suzama ukazuje na činjenicu da se kroz suze odstranjuje stanični materijal koji nastaje odumiranjem epitelnih stanica.

U suznom filmu nalazi se mnoštvo faktora rasta čija je uloga prvenstveno u sprečavanju upale te poticanju cijeljenja rana. Epidermalni faktor rasta (eng. *Epidermal growth factor*, EGF) kojeg izlučuju suzne žlijezde stimulira proliferaciju i migraciju epitelnih stanica rožnice te potiče cijeljenje (157). Njegova je koncentracija smanjena u hiposekrecijskom suhom oku i Sjögrenovom sindromu. Glavni antimikrobni proteini su lizozim, laktoferin i lipokalin. Lizozim djeluje na gram pozitivne bakterije na isti način kao i penicilin. Predstavlja najvažniju proteinsku komponentu suza te skupa s beta-

lizinom sinergistički uništava membrane bakterija. Lizozim čini 20 – 30 % ukupnih proteina u refleksnim i bazalnim suzama. Proizvode ga glavna i pomoćne suzne žlijezde. Njegova je koncentracija u suzama čak 120 puta veća nego li u serumu. Laktoferin je prisutan u istom omjeru u suzama kao i lizozim (20 – 30 %), a izlučuje ga glavna suzna žlijezda. Ima visoki kapacitet vezanja metala, uključujući i željezo koje je nužno za rast bakterija i produkciju toksina, pa stoga djeluje bakteriostatski. Osim toga, opisana su i baktericidna svojstva ovog enzima.

Lipokalin poput laktoferina, također ima bakteriostatska svojstva. No, njegova je uloga prvenstveno stvaranje sveza mukozno-vodenog sloja sa lipidnim sojem. Na taj način doprinosi razvoju stabilnosti suznog filma tako što regulira viskoznost i smanjuje površinsku napetost suza (157). U suzama su prisutni svi razredi imunoglobulina, i to prvenstveno Ig A. Proizvode ga plazma stanice suznih žlijezdi te limfno tkivo spojnice. Dokazane su više koncentracije sekretornog Ig A u suzama u jutarnjim satima u odnosu na mjerenja provedena u poslijepodnevnim satima (158). Sekretorni Ig A sprečava vezanje patogena za epitelne stanice, i to je djelovanje opisano kod infekcije oka akantamebom (159).

Mnogi proteini suza mogu predstavljati biomarkere za dijagnozu, pa čak i terapijski odgovor za različite bolesti očne površine. Primjerice, pokazano je da je koncentracija matriks-metaloproteinaze 9 (MMP-9) povišena u Sjögrenovom sindromu, dok je kod disfunkcije Meibomovih žlijezdi nepromijenjena. Isto tako, dokazane su povišene vrijednosti plazminogena kod Sjögrenovog sindroma (160). Ipak, navedena saznanja za sada nemaju širu primjenu zbog potrebe za daljnjom validacijom u neovisnim istraživanjima.

1.6.3.8.2. Suzne žlijezde

Glavna suzna žlijezda je tubuloacinarna serozna žlijezda koja se nalazi u gornjem temporalnom dijelu orbite, i to u udubini orbitalnog dijela čeonu kosti, fossi lacrimalis. Lateralni rog aponeuroze mišića podizača gornje vjeđe i Whintallov ligament, dijele glavnu suznu žlijezdu na 2 režnja, veći orbitalni i manji palpebralni. Iz oba režnja izlazi 6 - 12 kanalića koji se otvaraju u gornji forniks. Glavna suzna žlijezda je pretežito građena od acinarnih stanica (80 %) te manjim dijelom od duktalnih i mioepitelnih stanica. Intersticij žlijezde je prožet imunološkim stanicama: eozinofilima, limfocitima, makrofazima i plazma stanicama koje sudjeluju u proizvodnji

imunoglobulina svih razreda, a osobito Ig A. 10 % lakrimalnog tkiva čine pomoćne Krauseove i Wolfringove suzne žlijezde. To su tubularne egzokrine žlijezde koje za razliku od glavne suzne žlijezde nemaju acinusnu građu. Oko 40 Krauseovih žlijezdi se nalazi u gornjem forniksu, a tek 6 do 8 u donjem forniksu. Wolfringove žlijezde su malobrojnije, no volumenom nešto veće. 2 do 5 žlijezdi nalaze se u gornjoj vjeđi, a 1 do 3 u donjoj vjeđi. Suzne žlijezde izlučuju vodu, elektrolite, proteine i mucine. Glavna suzna žlijezda je gusto inervirana, i to prvenstveno parasimpatičkim živčanim vlaknima, a manjim dijelom i senzornim i simpatičkim vlaknima, i to preko n. trigeminusa (aferentna) i n. facialisa (eferentna). Glavna i pomoćne suzne žlijezde su odgovorne za bazalnu, refleksnu i emocionalnu sekreciju suza kroz neuralni luk. Sekrecija suza može biti aktivirana perifernom stimulacijom struktura očne površine i nosne spojnice, ili pak centralno pri svjetlosnoj stimulaciji mrežnice i psihogeno. Parasimpatička vlakna izlučuju neurotransmitere poput acetilkolina ili norepinefrina koji se pak, smatraju najvažnijim stimulatorima lakrimalne sekrecije. Pomoćne suzne žlijezde su inervirane slično glavnoj, pa je i sekrecija regulirana refleksno (5, 161).

1.6.3.9. Proizvodnja i volumen suza

Procjenjuje se da je ukupan volumen suza oko 7 μ l. Najveći dio ukupnog suznog volumena se nalazi u suznim meniscima (70 - 90 %) i direktno je vezan uz stopu lakrimalne sekrecije (155). Bazalna proizvodnja suza je $1,03 \pm 0,39 \mu\text{l}/\text{min}$ sa izmjenom od $16 \pm 5 \%$ svake minute (125). Suzne žlijezde osiguravaju najveći dio volumena suza, a manji dio proizvodi spojnica (155). Razlikuju se bazalne, refleksne i emocionalne suze te suze pri zatvorenim očima. Sekrecija suza se smanjuje za vrijeme noćnog sna, no isto tako dolazi do brojnih fizioloških promjena na očnoj površini koji utječu na biofizička i biokemijska svojstva suza. Primjerice, aktivira se anaerobni metabolizam, dok pH i osmolarnost suza opadaju. Bilateralna lokalna anestezija smanjuje refleksnu sekreciju suza za dvije trećine što se često naziva kao bazalna sekrecija suza. Emotivno suzenje je pak pod kontrolom viših centara. Suzni film se osvježava sa svakim novim treptajem. Treptanje, osim toga, ima važnu ulogu u širenju i distribuciji suznog filma na očnoj površini, ali i odstranjivanju staničnog debrisa i različitih onečišćenja. Normalna frekvencija treptanja je 15 – 20/min (162). Ovisi o mentalnom stanju pojedinca, pažnji, fizičkoj aktivnosti te izloženosti oka vanjskim faktorima kao što su temperatura, vlažnost i protok zraka (5).

1.6.3.10. Eliminacija suza

Suze se iz oka odvođe ekskretornim mehanizmom, evaporacijom i apsorpcijom putem epitela spojnice. U fiziološkim uvjetima, najveći dio volumena suza se drenira kroz ekskretorni sustav. Ekskretorni drenažni sustav čine suzne točke, suzni kanalići, suzna vrećica, nazolakrimalni kanal i nosna šupljina. Treptanje ima ključnu ulogu u drenaži suza. Prilikom treptaja kontrakcija orbikularnog mišića stvara naizmjenično pozitivni i negativni tlak u suznoj vrećici što dovodi do stvaranja suzne pumpe koja olakšava odvodnju suza prema nosnoj šupljini. Donji kanalići zbog gravitacije dreniraju četiri puta više suza od gornjih. Kontrakcija orbikularnog mišića u početnoj fazi treptaja, vuče zid suzne vrećice prema lateralno što uzrokuje negativni tlak u suznoj vrećici koja potom aspirira suze. Nakon treptaja suzna vrećica kolabira, suzne točke se otvaraju, a negativni tlak u suznim kanalićima potiče drenažu prema nosnoj šupljini (161). Evaporacija suza detaljno je opisana u poglavlju 1.6.3.7.

Treći put eliminacije suza je apsorpcija suza putem epitela spojnice, rožnice i nazolakrimalnog kanala.

1.7. DIJAGNOSTIČKE METODE DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Unatoč pandemijskim razmjerima disfunkcije suznog filma u čitavom svijetu, i dalje ne postoji standardizirani put njene dijagnostike. Osim toga, različite definicije i klasifikacijski sustavi disfunkcije suznog filma upućuju na manjak standardizacije i u tom području, što nameće niz ključnih pitanja u čitavoj problematici. Prije svega, što su objektivni i subjektivni kriteriji koji sigurno upućuju na disfunkciju suznog filma? Postoji li ijedan tako dobro validiran test, ili baterija testova s dobrom osjetljivošću i specifičnošću koji bi predstavljali globalni dijagnostički algoritam? I što bi uostalom trebalo smatrati ključnim; prisutnost simptoma ili znakova disfunkcije suznog filma? Kako ih kvantificirati? Nadalje, što je to što sigurno razlikuje zdravi i disfunkcionalni suzni film i koji su klinički parametri važni za dijagnostiku disfunkcije suznog filma? I u konačnici, što se uopće može smatrati abnormalnim s obzirom na razlike koje postoje u odnosu na dob, spol i rasu, a što je vidljivo u različitim podacima o prevalenciji disfunkcije suznog filma diljem svijeta u velikim epidemiološkim istraživanjima.

Definicija disfunkcije suznog filma iz 2017. godine koju je predložila Internacionalna radna skupina za suho oko, naglašava gubitak homeostaze suznog filma kao ključnog patofiziološkog fenomena. Narušavanje prirodnog ekvilibrijuma dovodi do hiperosmolarnosti i nestabilnosti suznog filma, što u konačnici vodi u stanje upale, neuropatije i njegove smanjene funkcije.

Prema tome, relevantni aspekti koje je potrebno uzeti u obzir pri dijagnostici disfunkcije suznog filma su njegova stabilnost, volumen, ph, osmolarnost te evaluacija prema slojevima suznog filma (19). No, većinu tih parametara nažalost nije moguće mjeriti u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Azijsko društvo za suho oko je predložilo koncept prema kojemu se dijagnostički postupak disfunkcije suznog filma svodi na evaluaciju uzroka nestabilnosti prema slojevima suznog filma (12).

Grupa priznatih međunarodnih stručnjaka iz područja suhog oka pak predlaže nestabilnost suznog filma kao ključni dijagnostički kriterij uz upalu očne površine te prisutnost simptoma, poput nelagode i smetnji vida (15).

Unatoč svim dostupnim saznanjima o biofizičkim i biokemijskim aspektima suznog filma, još uvijek ne postoji zlatni standard u dijagnostičkom algoritmu koji bi bio primjenjiv u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Stoga se cjelokupni dijagnostički postupak svodi na kombinaciju simptoma i znakova disfunkcije suznog filma (19).

1.7.1. ANAMNEZA I UPITNICI

Evaluacija prisutnosti simptoma je naglašavana kroz različite definicije disfunkcije suznog filma, te je uvrštena kao osnovni dijagnostički kriterij u brojnim epidemiološkim studijama, i to sa ili bez prisutnosti kliničkih znakova. Pri tomu je važno istaknuti da povezanost simptoma i kliničkih znakova nije uvijek linearna, i da zbog individualnih razlika i subjektivnosti u samoprocjeni često nije moguće objektivno kvantificirati težinu kliničke slike (163). Postoje pacijenti koji se žale na izražene simptome, a bez vidljivih objektivnih znakova, kao i oni sa značajnim oštećenjima očne

površine i tek blagim simptomima suhog oka. Kao i u drugim granama medicine, anamneza je osnovni korak u pravilnom dijagnostičkom postupku.

Najčešći simptomi koje pacijenti navode su osjećaj nelagode i poremećaj vida. Simptomi koji se klinički povezuju uz suho oko su iritacije, osjećaj stranog tijela, žarenje i pečenje, pojačano suzenje, fotofobija te povremena oštra bol (1, 11, 12). S obzirom da anamnestički podaci u direktnom razgovoru sa pacijentom ne daju objektivnu sliku niti omogućuju gradaciju, početak pregleda u istraživačkom kontekstu bi trebao uključivati primjenu validiranih upitnika. Ti se upitnici prvenstveno odnose na evaluaciju simptoma očne nelagode i poremećaja vida koji se povezuju sa suhim okom, kao i na utjecaj suhog oka na kvalitetu života i svakodnevne aktivnosti. Najčešći korišteni upitnici su:

1) *Ocular Surface Disease Index (OSDI)*

OSDI se sastoji od 12 pitanja koji se odnose na učestalost simptoma, utjecaj okolišnih čimbenika te u najvećem dijelu na prisutnost vidnih simptoma kao što su poremećaj vida i smanjenje funkcije vida pri čitanju, radu za računalom, gledanju televizije ili pak u noćnoj vožnji. Odgovori se kreću od 0 - nikada do 4 - stalno. Ukupan broj bodova se prikazuje na skali od 0 do 100, pri čemu veći broj bodova ukazuje na klinički izraženiji stupanj bolesti te veći utjecaj na vidnu funkciju. Test je validiran i smatra se pouzdanim pokazateljem bolesti suhog oka (164).

2) *Dry Eye Questionnaire (DEQ-5)*

Razvijen je 2010. godine i skraćena je verzija DEQ. Sastoji se od 5 pitanja koja se odnose na intezitet i učestalost osjećaja nelagode i suhoće unazad mjesec dana te prisutnost osjećaja suznih očiju. Bodovanje je od 0 do 4 ili do 5 na Likertovoj skali. Ukupan zbroj bodova veći od 6 upućuje na bolest suhog oka, a 12 ili više na suspektan Sjögrenov sindrom (165).

3) *Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL)*

Upitnik se sastoji od 57 pitanja iz 3 područja koja se odnose na prisutnost simptoma suhog oka, potom utjecaj tih simptoma na svakodnevne aktivnosti i na kraju zadovoljstvo sa učinkom provedenog liječenja. Svako područje ima maksimalno 100 bodova. Nisu predložene granične vrijednosti, no pokazano je da je pouzdan u gradaciji izraženosti kliničke slike bolesti suhog oka (166).

4) **Dry Eye-Related Quality-of-Life Score (DEQS)**

Razvijen je i validiran u Japanu 2013. godine. Sastoji se od 15 pitanja koja se odnose na evaluaciju i prisutnost subjektivnih simptoma suhog oka u zadnjih tjedan dana i njihov utjecaj na svakodnevne aktivnosti. Ukupan broj bodova pozitivno korelira sa izraženošću subjektivnih simptoma i njihovim većim utjecajem na svakodnevne aktivnosti. Predložena granična vrijednost za dijagnozu bolesti suhog oka je 15 od maksimalnih 100 bodova (167).

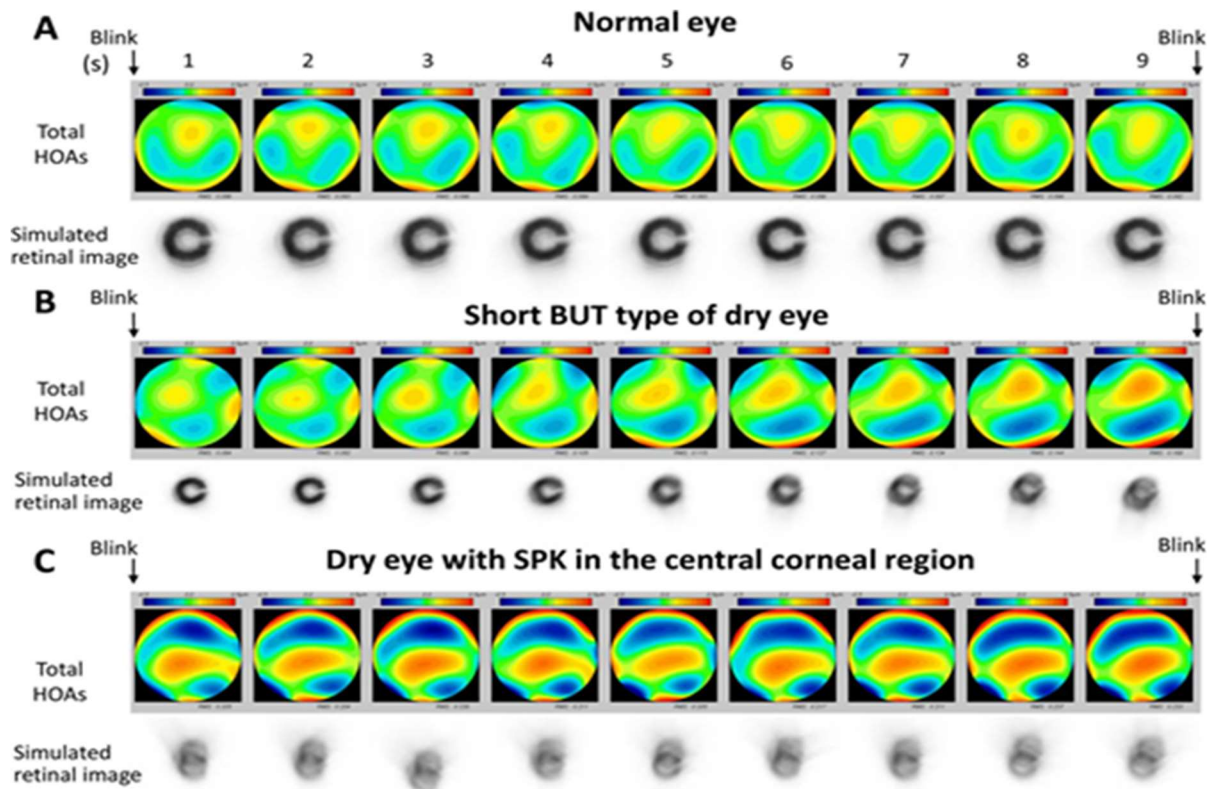
5) **Symptom Assessment in Dry Eye (SANDE)** je kratki upitnik sastavljen od svega dva pitanja kojima se kvantificira učestalost i izraženost simptoma bolesti suhog oka, a rezultati prikazuju na vidnoj analognoj skali. S obzirom na značajnu korelaciju sa rezultatima OSDI upitnika, SANDE se može smatrati kratkim, brzim i pouzdanim testom u svakodnevnoj kliničkoj praksi (168).

6) **Scheinov upitnik** je originalno razvijen 1997. godine za istraživanje prevalencije bolesti suhog oka među starijom populacijom, a kasnije modificiran dodavanjem numeričke skale odgovorima od nikada - 0 do uvijek - 4. Zbog svoje jednostavnosti i praktičnosti često se koristi u kliničkoj praksi. Validiran je i smatra se pouzdanim testom u detekciji bolesti suhog oka. Formuliran je kroz pitanja o učestalosti 6 subjektivnih simptoma suhoga oka (169).

Postoji čitav niz upitnika dizajniranih sa različitim ciljevima u istraživačke i dijagnostičke svrhe. S obzirom da su usmjereni na različite aspekte disfunkcije suznog filma teško ih je objektivno uspoređivati. I premda mnogi od njih nemaju predložene granične vrijednosti, evaluacija subjektivnih simptoma kroz direktna pitanja omogućava pouzdanu detekciju simptomatske bolesti suhog oka. S obzirom na moguću diskrepanciju simptoma i znakova kao i prisutnost znakova bez simptoma bolesti suhoga oka, dijagnostički postupak uvijek treba upotpuniti baterijom kliničkih testova i to prema kriteriju invazivnosti testa (19). U konačnici, u svakodnevnoj kliničkoj praksi anamneza i direktni neformalni razgovor sa pacijentom kao i sposobnost vlastite procjene, ipak imaju neprocjenjivu ulogu u prepoznavanju rizičnih faktora i dijagnostici bolesti suhoga oka unatoč subjektivnosti i nemogućnosti gradacije težine kliničke slike.

1.7.2. DIJAGNOSTIČKE METODE PROCJENE VIDNE FUNKCIJE I POREMEĆAJA VIDA

Poremećaj vida je kao simptom tek 2007. godine uvršten u definiciju disfunkcije suznog filma (18). No, uloga suznog filma u refraktivnom aparatu oka kao i utjecaj na optičku kvalitetu i vidnu funkciju je opisana davno prije. Kao što je već objašnjeno, suzni film predstavlja prvu refraktivnu površinu na kojoj se lome zrake svjetlosti pri prolazu kroz optički aparat oka. Još 1992. godine Rieger je prvi naglasio važnost i utjecaj prekornealnog suznog filma na kvalitetu optičke slike uspoređujući rezultate vidne oštine i statičke perimetrije kod pacijenata sa suhim okom i zdravih kontrola, a kasnije i druge aspekte vidne funkcije kao što je kontrastna osjetljivost (170). Konvencionalno mjerenje vidne oštine ne daje uvid u sve aspekte vidne funkcije, pa čak ni u slučajevima sa visokim stupnjem najbolje korigirane vidne oštine (eng. *Best-corrected visual acuity*; BCVA). Zato je pojava refraktivne kirurgije u oftalmologiji potaknula razvoj suvremene tehnologije koja je omogućila evaluaciju i drugih aspekata kao što je evaluacija kvantitativne kvalitete vida (eng. *Quantitative quality of vision*; QoV). Valna aberometrija i kornealna topografija se danas koriste i u drugim poljima oftalmologije, pa i u kliničkom radu kao tehnike dinamičke analize suznog filma (171). Kod pacijenata sa suhim okom, pokazane su izraženije aberacije višeg reda (eng. *Higher-order aberration*; HOA) i iregularni astigmatizam. Osim gore navedenih, nekoliko je metoda razvijeno sa svrhom objektivne analize utjecaja suznog filma na optičku kvalitetu: videokeratoskopija velike brzine, metoda dvostrukog mjerenja, retroiluminacija te interferometrija (172). Evaluacija vidnih simptoma je sastavni dio brojnih upitnika za dijagnozu disfunkcije suznog filma kako je već prethodno naglašeno. Neki od često korištenih upitnika su: OSDI, DEQ-5, DEQS, IDEEL. Najčešći vidni simptomi koji se povezuju sa suhim okom, a na koje se nailazi u kliničkoj praksi su prvenstveno fluktuacije vida sa treptanjem, zamagljenje vida, zablještenje (eng. *glare*) te zamor očiju. Nestabilnost suznog filma je povezana sa smanjenom stabilnošću postreptajnih aberacija višeg reda koje dovode do fluktuacija vida povezanih sa treptanjem i povećanog raspršivanja svjetla na prednjoj površini oka što uzrokuje simptom zablještenja (Slika 2.) (173). Oštećenja očne površine u području optičke zone dovode do aberacija višeg reda i povećanog raspršivanja svjetla na stražnjoj površini rožnice što može uzrokovati zamućenje vida (174).



Slika 2. Prikaz kolornih mapa aberacija višeg reda (HOA) snimanih valnom aberometrijom u intervalima od jedne sekunde između dva treptaja i simulacija retinalne slike prikazana Landoltovim prstenovima. **A.** HOA mapa pacijenta s urednom funkcijom suznog filma i stabilnom optičkom kvalitetom retinalne slike kroz čitavo vrijeme međutrepajnog intervala. **B.** HOA mapa pacijenta sa suhim okom i kratkim vrijednostima TBUT-a. Crvene zone područja su destabilizacije i pucanja suznog filma kroz vrijeme te posljedično postupnog pada optičke kvalitete. **C.** HOA mapa pacijenta sa superficijalnim punktfornim keratitisom u centralnom području rožnice. Izgled mape ukazuje na HOA i izrazitu deterioraciju optičke kvalitete odmah nakon treptaja (173).

1.7.2.1. Kornealna topografija

Topografija rožnice je nekontaktna slikovna pretraga koja omogućuje prikaz oblika i karakteristika prednje površine rožnice. Primarna uloga topografije je otkrivanje kornealnog iregularnog astigmatizma. Konvencionalni topografi kao što je Placidov disk analiziraju uzorke svjetlosnih zraka koje se reflektiraju od rožnice i dodirne zone zraka i suznog filma, te se na temelju tih informacija rekonstruira oblik rožnice. Stoga se topografijom mogu prikazati promjene koje nastaju zbog fluktuacija i inhomogenosti suznog filma. Nekoliko je studija dokazalo povezanost lokalnih promjena te smanjena

stabilnosti suznog filma i izraženijeg iregularnog astigmatizma rožnice (174,176). Tomogrami koji se baziraju na Scheimpflugovom principu pružaju informacije o stražnjoj površini rožnice te omogućavaju trodimenziomalnu rekonstrukciju elemenata prednjeg segmenta oka. Osim toga, omogućavaju objektivno mjerenje rasipanja svjetla sa stražnje površine rožnice. Koh i sur. su koristeći navedenu tehnologiju dokazali izraženije posteriorno rasipanje svjetla kod ispitanika sa suhim okom u odnosu na zdrave kontrole, a osobito kod bolesnika sa superficijalnom punktiformnom keratopatijom u području optičke zone (177). Brojne studije su istraživale površinske iregularnosti kod ispitanika sa suhim okom koristeći indeks površinske regularnosti i asimetrije (eng. *Surface regularity index*; SRI, *Surface asymmetry index*; SAI) te dokazali povišene vrijednosti u odnosu na zdrave kontrole (178). Unaprjeđenjem softverskog sustava razvijen je sustav za analizu stabilnosti suznog filma (eng. *Tear film stability analysis system*; TSAS). Taj je sustav omogućio dinamičko snimanje rožnice kroz period od 10 sekunda nakon treptaja, te se pokazao pouzdanim u mjerenju vremena i mjesta pucanja suznog filma, i to s većom osjetljivošću u odnosu na konvencionalni fluoresceinski test kod zdravih ispitanika (179). Istom metodologijom je dokazano značajno smanjenje stabilnosti suznog filma nakon LASIK-a u ranom postoperativnom periodu.

1.7.2.2. Videokeratoskopija velike brzine

S obzirom da je suzni film dinamička struktura i da je optička kvaliteta oka odraz stabilnosti suznog filma, razvijena je metodologija koja je promjene u suznom filmu mogla prikazati kroz vremenski interval između treptaja. I najmanje lokalne promjene te iregularnosti prekornealnog suznog filma unutar optičke zone, mogu uzrokovati dodatne aberacije i smanjiti optičku kvalitetu oka (179).

1.7.2.3. Valna aberometrija

Aberometri koriste istu tehnologiju i metode analize kao i kornealni topografi te mogu objektivno detektirati i kvantificirati povećanje aberacija višeg reda nastalih kao posljedica fluktuacija suznog filma (180). Nekoliko je studija dokazalo povećanje aberacija višeg reda sa dinamikom suznog filma nakon treptaja i degradaciju optičke kvalitete. Uočeno je da promjene u dinamici suznog filma utječu na optičku kvalitetu nakon treptaja (180, 181). Osim toga, grupa istraživača je dokazala značajnu povezanost progresije kornealnih aberacija višeg reda sa subjektivnim vidnim

simptomima kod ispitanika sa suhim okom (182). Stoga je ova metoda iznimno važna u dijagnostičkom procesu prije refraktivnog kirurškog zahvata.

Razvoj tehnologije sekvencijalnog mjerenja kornealnih aberacija, omogućio je prikaz promjena aberacija višeg reda nakon treptaja kroz vrijeme (172). Iako se smatralo da ukupne aberacije višeg reda ostaju stabilne i do 15 sekunda između 2 treptaja kod zdravih pojedinaca, grupa istraživača dokazala je povezanost dinamičkih promjena suznog filma nakon treptaja i povećanja ukupnih aberacija višeg reda, i kod zdravih ispitanika (183). Osim toga, aberacije višeg reda su kod ispitanika sa hiposekrecijskim suhim okom bile izraženije u području optičke zone oka, a osobito kod ispitanika sa superficijalnim punktiformnim keratitisom. Zanimljivost ovog istraživanja je podatak da su ukupne aberacije višeg reda kod ispitanika sa suhim okom, a koji nisu imali superficijalni punktiformni keratitis u području optičke zone, odgovarale vrijednostima izmjerenima kod zdravih ispitanika (184). Sve to upućuje na važnost promjena suznog filma i oštećenja površine oka u području centralne optičke zone rožnice, osobito sa aspekta zadovoljavajućeg postoperativnog ishoda u području refraktivne kirurgije.

1.7.2.4. Mjerenje funkcionalne vidne oštine

Pojam funkcionalne vidne oštine su prvi puta opisali Goto i suradnici 2002. godine i to kao simulaciju funkcionalnog vida u svakodnevnim aktivnostima kao što su čitanje, vožnja i rad za računalom. Mjerena je manualno na način da su ispitanici gledali u optotip na ploči za ispitivanje vidne oštine sa svojom standardnom korekcijom, i to kroz period od 10 do 20 sekunda bez treptanja uz pomoć lokalne anestezije. Ova metoda je prvenstveno razvijena s ciljem evaluacije vidne oštine do trenutka destabilizacije suznog filma kod pacijenata sa suhim okom (185). Metoda je kasnije modificirana razvojem matematičkog sustava radi bolje standardizacije testa, te je mjerena s najbolje korigiranom vidnom oštrinom i bez supresije treptanja zbog mogućeg utjecaja na dinamiku suznog filma. Varijacija ove metode je Metoda mjerenja smanjenja vidne oštine između treptaja (eng. *The Interblink Interval Visual Acuity Decay*; IVAD). Temelji se na računalnom sustavu koji prezentira Landoltov C znak kod najbolje korigirane vidne oštine, a potom se mjeri smanjenje vidne oštine u milisekundama. Ova je metoda patentirana i s obzirom da zahtijeva uporabu posebne računalne opreme, nije primjenjiva u svakodnevnoj kliničkoj praksi. (186). Koristeći ovu tehnologiju, grupa istraživača je dokazala diurnalne varijacije vidnih simptoma kod

ispitanika sa suhim okom (187). Osim toga, pokazano je da pacijenti sa suhim okom imaju značajno manju sposobnost čitanja u odnosu na zdrave kontrole, te pozitivnu korelaciju između brzine čitanja i izraženosti kliničke slike bolesti suhog oka (188). Iako je ova metoda korisna u detekciji i minimalnih vidnih poremećaja, kao i u objektivnoj kvantifikaciji optičke kvalitete vida, važno je naglasiti da rezultati FVA ovise o brojnim faktorima kao što su optika oka te retinalna i kognitivna funkcija. Primjerice, pokazano je da su velike fluktuacije rezultata FVA češće kod pacijenata sa akomodativnim mikrofluktuacijama čime se može objasniti simptom zamora oka, nastalog kao posljedica nestabilnosti suznog filma (189).

Test perioda vremena u kojem dolazi do zamućenja linije najbolje korigirane vidne oštine od otvaranja oka (eng. *Post-Blink Blur Time*; PBBT) kojeg je opisao autor Petriček I. u svom doktorskom radu, primjer je jednostavnije i praktičnije dijagnostičke metode koja za razliku od gore navedenih ne zahtijeva posjedovanje nikakve dodatne opreme. PBBT mjeri period u kojem dolazi do zamućenja optotipa na ploči za ispitivanje vidne oštine od trenutka otvaranja oka. Predložena granična vrijednost PBBT testa je 7 sekunda (190). S obzirom da je u tom radu dokazana pozitivna korelacija između prosječnih TBUT i PBBT vrijednosti, može se pretpostaviti da oba testa mjere isti patofiziološki fenomen, trenutak destabilizacije suznog filma. Zanimljivo je da do sada nisu provedena istraživanja koja ispituju povezanost i osjetljivost funkcionalne vidne oštine i testova procjene stabilnosti suznog filma.

1.7.3. PREGLED VJEĐA

Svaki dijagnostički postupak disfunkcije suznog filma bi trebao uključivati pregled vjeđa. Iako su njihova važnost i uloga direktno opisane samo u Brewitovoj definiciji disfunkcije suznog filma iz 2001. godine, važno je istaknuti da su izgled, funkcija potpunog zatvaranja vjeđa i treptanje ključni za zdravlje oka te zaštitu integriteta i uredno funkcioniranje suznog filma i svih struktura očne površine. Osim toga, vjeđama trepćemo, a treptanje je ključno za održanje homeostaze suznog filma i optičke kvalitete oka. Suzni film se osvježava i raspodjeljuje po površini oka uz pomoć treptanja, a debris i nečistoće uklanjaju s površine oka. Isto tako, treptanje je važno u distribuciji meibuma i stabilnosti suznog filma (25). Normalna frekvencija

treptanja je iznimno varijabilna i iznosi $15,5 \pm 13,7$ u minuti. Kod čitanja ili rada za računalom treptanje se značajno smanjuje na $5,3 \pm 4,5$ u minuti (191). Frekvencija treptanja je veća kod žena u odnosu na muškarce. Istraživanja vezana uz utjecaj dobi nisu dokazala nedvojbenu povezanost (192). Smanjen interval između treptaja i nepotpuno treptanje mogu uzrokovati disfunkciju suznog filma te posljedično ekspozijsku keratopatiju (19, 192). Zanimljivo je da je brzina treptaja gornje vjeđe veća od donje, kao i da je veća u fazi zatvaranja oka. Pokazano je da brzina treptaja nije u korelaciji s nijednim simptomom disfunkcije suznog filma, kao niti s rezultatima testova procjene stabilnosti suznog filma (193).

1.7.3.1. Pregled ruba vjeđe

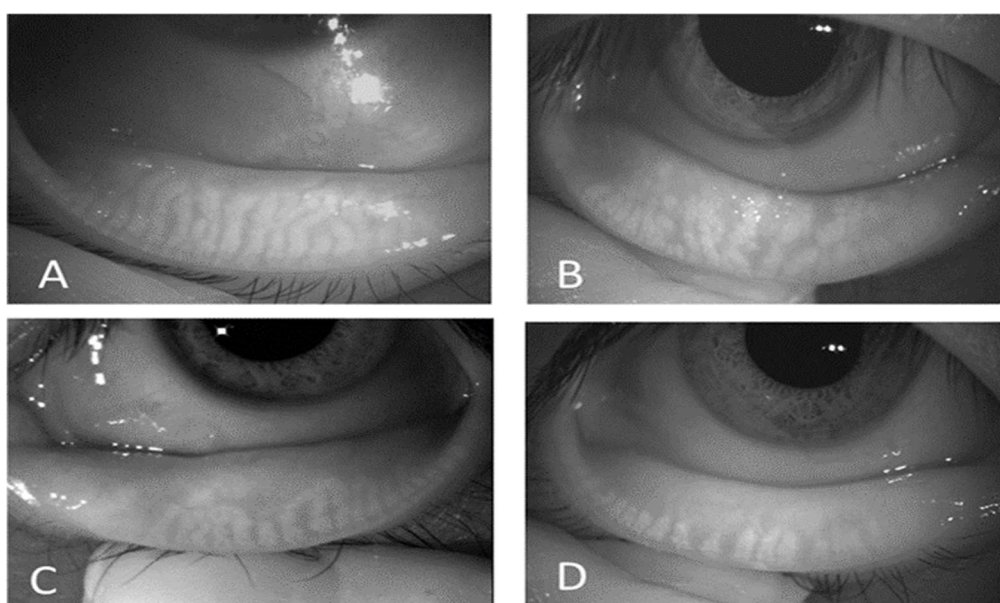
Detaljan pregled ruba vjeđe je iznimno važan u prepoznavanju drugih stanja i bolesti, ali i otkrivanju rizičnih faktora za razvoj disfunkcije suznog filma. Uključuje pregled trepavica, ušća Meibomovih žlijezdi i izgled ruba vjeđe.

Prvenstveno je potrebno isključiti blefaritis koji može biti posljedica infekcije ili pak alergijske reakcije te disfunkciju Meibomovih žlijezdi. Iregularnosti ruba vjeđe u smislu prisutnosti hiperemije, teleangiektazija, dilatacije vaskularija te začepljenosti ušća izvodnih kanalića Meibomovih žlijezdi mogu upućivati na MGD. Važno je naglasiti da perzistentni i ponavljajući blefaritis, u konačnici može uzrokovati i bolest suhog oka. Zadebljanja i nepravilnosti ruba vjeđe dovode do slabijeg prijanjanja vjeđe i očne jabučice što može uzrokovati promjene oblika i funkcije suznog meniska te slabiju distribuciju suza i sporije širenje lipidnog sloja suza (19, 25).

1.7.3.2. Meibografija

Meibografija je slikovna metoda koja je omogućila direktnu in vivo vizualizaciju morfologije Meibomovih žlijezdi. Temelj ove kontaktne pretrage je prikaz ušća i kanalića Meibomovih žlijezdi kao hiperluminiscentnih područja zbog transmisije svijetla. Originalno, pretraga je predstavljena kao infracrvena transiluminacijska tehnika s prikazom žlijezdi na evertiranoj vjeđi uz pomoć biomikroskopa, i to na crno-bijelom ili infracrvenom filmu. Filmove su kasnije zamijenili video-kamera, monitor i ručni izvor svijetla (194). Arita i sur. su 2008. godine predstavili nekontaktnu meibografiju koja žlijezde prikazuje u obrnutom kontrastu u odnosu na kontaktne transiluminacijske tehnike. Sastavni dio ove metode čine infracrvena kamera i

infracrveni transmitirajući filter koji su kasnije postali komercijalno dostupni kao dodatna oprema nekih biomikroskopa (195). Naposljetku, metoda je modernizirana razvojem prijenosnih i multifunkcionalnih meibografa u obliku olovke sa infracrvenim emitirajućim diodama i pripadajućim infracrvenim kamerama. Novije tehnologije u današnje vrijeme su laserska konfokalna meibografija te meibografija uz pomoć optičke koherentne tomografije (eng. *Optical coherent tomography*; OCT) (19). Postoji nekoliko različitih gradacijskih sustava koji uzimaju u obzir različite aspekte Meibomovih žlijezdi kao što su broj žlijezdi, gubitak žlijezdi, postotak parcijalnih žlijezdi, dilatacija kanalića. Arita i sur. su predložili slijedeći gradacijski sustav (Slika 3.) (195).



Slika 3. Nekontaktna meibografija. Prikaz gubitka Meibomovih žlijezdi kroz gradacijski sustav od 0 do 3. **A.** Stupanj 0- nema gubitka Meibomovih žlijezdi. **B.** Stupanj 1- područje gubitka Meibomovih žlijezdi je manje jedne trećine ukupnog područja žlijezdi. **C.** Stupanj 2- područje gubitka Meibomovih žlijezdi je između jedne trećine i dvije trećine ukupnog područja žlijezdi. **D.** Stupanj 3- područje gubitka Meibomovih žlijezdi je veće od dvije trećine ukupnog područja žlijezdi (195).

Meibografija kao pojedinačna metoda nije dostatna za dijagnostiku MGD i treba ju promatrati u kontekstu drugih kliničkih parametara. No, u kombinaciji sa simptomima disfunkcije suznog filma i abnormalnostima ruba vjeđe, ova je metoda pokazala visoku specifičnost i osjetljivost u dijagnostici MGD (19).

1.7.3.4. Ekspresija Meibomovih žlijezdi

Kvaliteta, kvantiteta i ekspresija meibuma su odraz urednog funkcioniranja Meibomovih žlijezdi. Uredna ekspresija upućuje na urednu sekretornu funkciju Meibomovih žlijezdi, a indirektno i na integritet lipidnog sloja suznog filma te je stoga ova pretraga kao dio dijagnostičkog postupka pregleda vjeđa na biomikroskopu, indirektni prikaz strukture i funkcije Meibomovih žlijezdi. Meibum je kod zdravih ljudi bistrog izgleda i lako se istiskuje s manualnim pritiskom palca uzduž donje vjeđe i neposredno ispod njenog ruba (22, 25). No, kod pacijenata sa MGD postaje zamućen i povećane viskoznosti, te poput paste u težim oblicima bolesti. Postoji nekoliko gradacijskih sustava kojima se evaluira izgled i količina meibuma te broj i lokacija žlijezdi (22). S obzirom da je ova pretraga po svojoj naravi invazivna i da uključuje manipulaciju vjeđama, važno je u dijagnostičkom algoritmu uzeti u obzir kriterij utjecaja na ostale pretrage kao i aspekt subjektivnosti. To se prvenstveno odnosi na jačinu manualnog pritiska. Zato su Korb i Blackie razvili standardizirani postupak ekspresije Meibomovih žlijezdi uz pomoć posebnog instrumenta koji pritanjanjem na vjeđu proizvodi pritisak od 1,25 g/mm² na području od 40 mm², a što predstavlja aproksimaciju između sile kojom vjeđa pritišće očnu jabučicu pri spontanom treptanju i one pri forsiranom zatvaranju vjeđa (196).

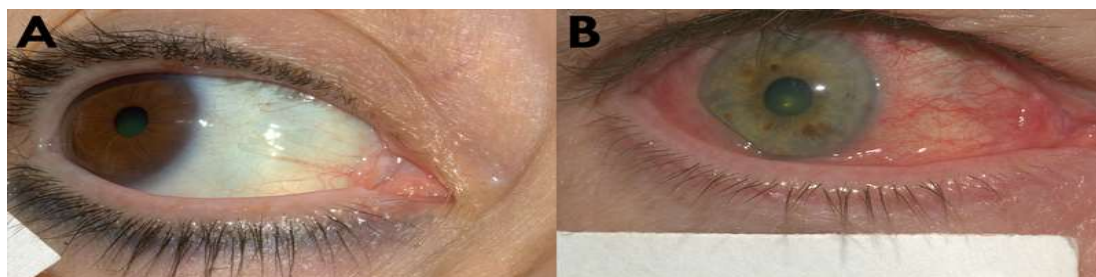
1.7.4. PREGLED STRUKTURA OČNE POVRŠINE

1.7.4.1. Hiperemija spojnice

Hiperemija spojnice je najčešći klinički znak u oftalmologiji koji upućuje na upalu struktura očne površine. Međutim, hiperemija spojnice je karakteristika ne samo suhog oka, nego i niza upalnih i infektivnih bolesti oka kao što su alergijski i infektivni konjunktivitis. Pojavljuje se i u glaukomu, potom kod nositelja kontaktnih leća te kao odgovor na kemijske ozljede oka i lokalnu terapiju. Promjene izgleda krvnih žila u obliku dilatacije i inteziteta crvenila nastaju kao odgovor na različite patološke podražaje (5). Specifičnost bolesti suhog oka je pojava površnih i pretežito horizontalnih vazodilatacija bulbarne spojnice unutar ekspaniranog dijela vjeđnog rasporka (197).

Procjena hiperemije spojnice se svodi na usporedbu kliničkog nalaza sa različitim grafičkim skalama. Najčešće korištene skale su M-CD skala, CCLRU skala, Efronova skala i VBR skala (eng. *Validated bulbar redness*; validirana hiperemija bulbarne spojnice) (19). Iako jednostavna i neinvazivna, ova pretraga je limitirana prije svega subjektivnošću ispitivača. Negativnost ove pretrage je slaba ponovljivost i nemogućnost usporedbe rezultata različitih primijenjenih skala. Osim toga, navedeni gradacijski sustavi su prvenstveno razvijeni za klinički rad, a ne usporedbu s digitalnim fotografijama i istraživački rad (198).

Kasnije su razvijeni brojni softverski sustavi analize digitalnih fotografija sa svrhom što veće objektivnosti u procjeni stupnja hiperemije spojnice i mogućnosti dokumentacije nalaza radi praćenja tijeka liječenja (199). Primjer je digitalna skala hiperemije bulbarne spojnice (eng. *Digital bulbar redness*; DBR) koja se temelji na prikazu fotografija u četiri kvadranta bulbarne spojnice, a koje su numerirane od 10 kao najmanje izražena hiperemija spojnice do 100, kao najizraženija hiperemija (Slika 4.) (200).

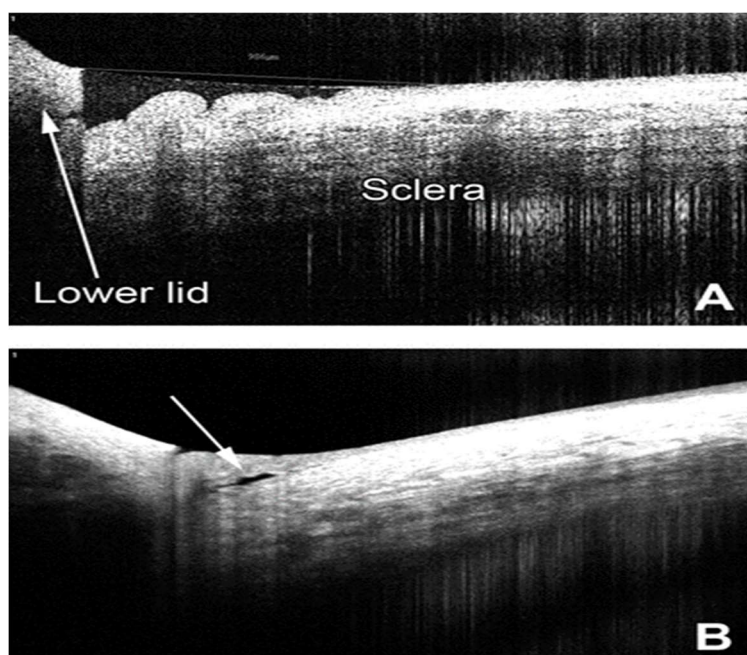


Slika 4. Digitalna skala hiperemije bulbarne spojnice. **A.** Najmanje izražena hiperemija spojnice numerirana je s 10; **B.** Najizraženija hiperemija spojnice numerirana s 100. (200).

Schulze i sur. su uspoređujući rezultate subjektivnog gradacijskog sustava (VBR) i objektivne automatizirane metode (Oculus keratograf) između pacijenata sa suhim okom i zdravih kontrola, dokazali statistički značajnu razliku samo u skupini pacijenata kod kojih je korišten subjektivni gradacijski sustav. S obzirom da su obje metodologije pokazale značajnu redukciju crvenila nakon ukapavanja vazokonstriktora, može se zaključiti da je subjektivni gradacijski sustav pouzdan u kliničkom razlikovanju pacijenata sa suhim okom i zdravih kontrola (201).

1.7.4.2. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe

Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (eng. *Lid-parallel conjunctival folds*; LIPCOF) su nabori spojnice koji se pojavljuju u donjem lateralnom kvadrantu bulbarne spojnice paralelno sa rubom donje vjeđe. Pretpostavlja se da nastaju kao posljedica pojačanog trenja pri treptanju (202). Također, u jednom je istraživanju dokazana značajna povezanost LIPCOF-a sa nekompletnim treptanjem, dok s druge strane nije dokazana povezanost simptoma suhog oka i postotka nekompletnih treptaja (192). Iako klinički sličnog izgleda, konjunktivohalaza ima drugačije karakteristike u smislu veće površine i centralnije pozicije u odnosu na LIPCOF. Osim toga, LIPCOF za razliku od konjunktivohalaze nije ovisan o dobi. Höh i sur. su istražujući povezanost suhog oka i LIPCOF-a predložili gradacijski sustav u 4 stupnja od 0 (nema nabora spojnice) do 3 (više nabora iznad razine normalnog suznog meniska). U istom istraživanju je objavljena visoka pozitivna prediktivna vrijednost LIPCOF-a od 93,09% (granična vrijednost između stupnja 1 i 2) (203). Istraživanje sa sličnom metodologijom je pokazalo nešto slabije rezultate i to 79,8 % što ukazuje na značajnu povezanost većeg stupnja LIPCOF-a i simptomatske bolesti suhog oka (204). Uz to, Pult i sur. su dokazali da kombinacija NIBUT-a i nazalnog LIPCOF-a ima najsnažniju prediktivnu vrijednost u nizu kliničkih testova u dijagnostici simptomatske bolesti suhog oka, a LIPCOF se pokazao kao najpotentniji klinički znak u razlikovanju suhog oka i zdravih kontrola (205). Rezultati multicentrične studije iz 2012. godine su pokazali srednju osjetljivost i specifičnost LIPCOF-a kao testa sa dobrom pozitivnom prediktivnom vrijednošću u dijagnostici bolesti suhog oka. Ovi rezultati potvrđuju mogućnost korištenja LIPCOF-a kao probirnog testa u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Iako jednostavan i neinvazivan, ovaj je test nespecifičan u etiološkom razlikovanju disfunkcije suznog filma iako su rezultati gore navedene multicentrične studije pokazali negativnu korelaciju između vrijednosti Schirmer 1 testa i stupnja LIPCOF-a, kao i izraženiji LIPCOF u grupi ispitanika sa hiposekrecijskim suhim okom (206). U novije vrijeme, evaluacija i gradacija nabora spojnice je moguća uz pomoć OCT-a i Scheimpflugove kamere koji za razliku od biomiskroopa ne potiču refleksno suženje niti utječu na visinu suznog meniska, a omogućavaju i evaluaciju dodatnih aspekata kao što je prekrivenost nabora suznim filmom (Slika 5.) (207).



lika 5. OCT prikaz temporalnog LIPCOF-a prekrivenog suznim filmom (A) i bez suznog filma (B). Strelica prikazuje područje niskog reflektiviteta unutar nabora spojnice (B) (207).

1.7.4.3. Bojenje vitalnim bojama

Bojanje vitalnim bojama je učestala klinička praksa u dijagnostičkom procesu brojnih bolesti očne površine, a osobito disfunkcije suznog filma. Najčešće se koriste natrij-fluorescein i lizamin, dok je bengalsko crvenilo zbog svoje citotoksičnosti sve manje u uporabi (19, 208).

Natrij-fluorescein je narančasta fluorescentna boja male molekularne mase sa vršnom ekscitacijom pri valnim duljinama između 450 i 500 nm i fluorescencijom na 500 - 600 nm. Koristi se od kraja 19-og stoljeća (208). Aplicira se uz pomoć papirnih trakica natopljenih bojom ili ukapavanjem malog volumena od 0,5 % do 2 % fluoresceinske otopine u oko (8). Postoji nekoliko teorija o tome što se zapravo boji fluoresceinom na površini oka. Klasično objašnjenje je da se bojanje fluoresceinom pojavljuje kada dolazi do prekida u interstaničnim svezama živih stanica ili pak oštećenja membrana stanica i površnog glikokaliksa (209). No, danas postoje dokazi i o slaboj pozadinskoj fluorescenciji zdravih epitelnih stanica rožnice (210). Bron i sur., pak smatraju da i sama interstanična difuzija boje uzrokuje stres i oštećenje epitelnih

stanica, što ostavlja otvorenim problematiku značenja i nastanka bojenja (209). Koncentracija fluoresceina na oku od 0,1 - 0,2 %, smatra se idealnom za postizanje maksimalne fluorescencije suznog filma (211). Osim toga, preporučeno vrijeme za postizanje adekvatne fluorescencije je i do 10 minuta što ovisi o koncentraciji fluoresceina, apliciranom volumenu otopine te volumenu i drenaži suza (212). Primjerice, ukapavanje 1 μ l 2 % otopine fluoresceina, bilo bi idealno ukoliko je ukupan volumen suza 10 μ l, jer bi to odgovaralo koncentraciji fluoresceina od 0,2 % na oku, no ukoliko je volumen suza smanjen, koncentracija fluoresceina se povećava što može uzrokovati fenomen „*gašenja boje*” i duže vrijeme do postizanja fluorescencije (213). S obzirom da impregnirane trakice omogućavaju slabiju kontrolu volumena i koncentracije boje, fluoresceinske otopine se smatraju praktičnijim izborom.

Lizamin zelena boja je zeleno-plava nefluorescentna boja koja je danas gotovo pa zamijenila bengalsko crvenilo za bojenje spojnice zbog manje toksičnosti i dobre tolerancije. Smatra se da prodire kroz oštećene membrane epitelnih stanica i boji jezgre neovisno o prisutnosti mucina (208). Obično se koristi u koncentraciji od 1 % i volumenu $\geq 25 \mu$ l, dok dostupne trakice najčešće ne osiguravaju adekvatnu koncentraciju boje (214). Bojenje se promatra na biomikroskopu uz pomoć bijelog svjetla. Obično jako brzo nestaje, unutar 2 minute, iako kod pacijenata sa Sjögrenovim sindromom ostaje jako dugo prisutna na oku (209).

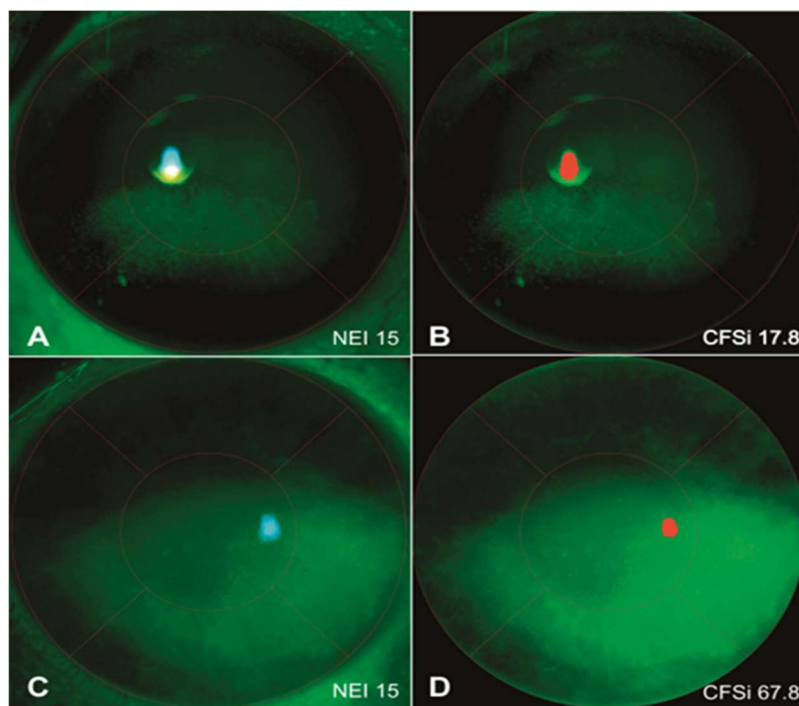
Bengalsko crvenilo boji mrtve i oštećene stanice te epitelne stanice bez prisutnosti mucina ili glikokaliksa. Iako je primarno razvijena za bojenje spojnice, danas je značajno manje u uporabi zbog osjećaja nelagode i pečenja pri aplikaciji te posljedičnog refleksnog suzenja. Osim toga, pokazano je da ima i citotoksična svojstva (208). Prvi ju je predstavio Schirmer 1903. godine (6). Koristi se pri koncentraciji od 1 %, a promatra biomikroskopom sa bijelim svjetlom i bez filtera (208).

1.7.4.3.1. Klinička interpretacija nalaza

Postoji nekoliko gradacijskih sustava koji se temelje na principu promatranja mjesta i gustoće pozitivnih promjena na rožnici i spojnici. To su primjerice Bijsterveldov sustav, NEI / Industry skala, Oxfordova skala te međunarodni sustav bodovanja za Sjögrenov sindrom (215, 8, 212, 216). Danas se u kliničkom radu najčešće koristi Oxfordova i NEI / Industry skala. U NEI / Industry skali, rožnica je podijeljena u 5 zona (centralni, gornji, donji, nazalni i temporalni dio), a spojnica u 3 zone (gornji i donji paralimbalni dio te

periferni temporalni i nazalni dio kao jedna regija). Svako je područje bodovano od 0 do 3 prema intezitetu bojenja i to izraženosti punktiformnog keratitisa sa maksimalnim brojem od 15 bodova za rožnicu, te 9 za spojnicu (8). Oxfordova skala se svodi na intezitet promjena rožnice i 2 zone spojnice kroz 6 stupnjeva (od 0 do 5) (212). Najčešći obrazac bojenja kod disfunkcije suznog filma je upravo u donjoj zoni rožnice, iako je pozitivan nalaz moguć i kod zdravih pacijenata (217).

Zaključno, metoda bojenja rožnice i spojnice vitalnim bojama može biti važan pokazatelj težine kliničke slike disfunkcije suznog filma, osobito kod izraženijih slučajeva (218). No, danas su razvijene objektivnije metode koje koriste automatizirani sustav kompjuterske analize fotografija za potrebe istraživačkih protokola i koje nisu pogodne za svakodnevni klinički rad (Slika 6.) (219).



Slika 6. Prikaz pacijenata s pozitivnim nalazom bojenja rožnice graduiranih prema NEI skali s maksimalnih 15 bodova (**A** i **C**). Bodovanje prema automatiziranom sustavu kompjuterske analize fotografija za iste pacijente iznosi 17,8 i 67,8 (**B** i **D**) (eng. *Corneal Fluorescein Staining Index*; CFSI) (219).

1.7.4.4. Impresijska citologija

Impresijska citologija je metoda koja je omogućila evaluaciju skvamozne metaplazije i gustoće vrčastih stanica spojnice u dijagnostici i praćenju bolesti suhoga

oka (288). Pretraga se svodi na uzimanje uzorka najpovršnijih slojeva epitela spojnice uz pomoć acetatnog celuloznog filtera ili biopor membrana koji se potom analiziraju različitim metodama kao što su mikroskopija, imunocitokemija i protočna citometrija. Uzorak se potom uspoređuje s različitim klasifikacijskim sustavima skvamozne metaplazije epitela, a koji se temelje na različitim kvantitativnim ili kvalitativnim citološkim kriterijima. Jedan od primjera je Nelsonov klasifikacijski sustav u kojem se razmatraju različiti aspekti gustoće i morfologije epitelnih i vrčastih stanica spojnice (220).

1.7.4.5. Procjena upale struktura očne površine

Upala je ključna patofiziološka podloga razvoja disfunkcije suznog filma i jedan od stabilnih pokazatelja težine kliničke slike (5). No, znaci upale na prednjem segmentu oka mogu upućivati na brojne očne bolesti i stanja te sistemske, pretežito autoimune bolesti kao što su Sjögrenov sindrom, sistemski eritematoidni lupus, miješane kolagenoze i Stevens Johnsonov sindrom (1, 5). **Procjena hiperemije spojnice** detaljno je opisana u poglavlju 1.7.4.1.

Matriks metaloproteinaza-9 je protein suza čije vrijednosti rastu u upali i disfunkciji suznog filma te su pokazatelj gubitka barijere struktura očne površine, no povišene vrijednosti u suzama nisu patognomične za disfunkciju suznog filma (13). Stoga, komercijalno dostupan instrument (InflammaDry, Rapid Pathogen Screening, Inc, Sarasota, FL, USA) koji može izmjeriti razine MMP-9 unutar 10 minuta nema većeg značenja u rutinskoj kliničkoj praksi, a pozitivan rezultat ($> 40 \mu\text{g/ml}$), pak ne upućuje na sigurni uzrok upale (221). Brojni citokini i kemokini koji se luče u suzama mogu ukazivati na mogući izvor upale. Primjerice elevacija Th2 citokina može upućivati na alergijsku etiologiju, no pokazano je da je elevacija Th1, Th2 i Th17 stanica prisutna u svim etiološkim kategorijama suhog oka, a osobito Th1 koji se može smatrati globalnim znakom suhog oka (222). Iako su dokazane povišene vrijednosti imunoloških markera kao što je HLA-DR u klinički izraženijim oblicima bolesti suhog oka, slaba korelacija sa drugim znakovima suhog oka, ukazuje na nespecifičnost ovog markera u dijagnostici bolesti suhog oka (223).

In vivo konfokalna mikroskopija može u realnom vremenu prikazati morfološke promjene te subepitelne i stromalne znakove upale koji postoje kod pacijenata sa suhim okom, kao i u različitim etiološkim kategorijama suhog oka u odnosu na zdrave

kontrole kao što su primjerice dendritičke stanice rožnice, aktivirane stanice strome i spojnice te infiltraciju i morfološke promjene Meibomovih žlijezdi (224).

1.7.5. PROCJENA VOLUMENA SUZA

1.7.5.1. Meniskometrija

Suzni menisk kao rezervoar suza sadrži oko 75 do 90% ukupnog volumena suza, te su njegove vrijednosti povezane sa stopom lakrimalne sekrecije (225). Stoga kvantitativna procjena suznog meniska, indirektno ukazuje na stanje ukupnog volumena suza i omogućava detekciju hiposekrecijskog suhog oka. Osim toga, rezultati mjerenja različitih parametara na biomikroskopu kao što su visina, zakrivljenost i poprečni presjek suznog meniska, pokazali su dobru korelaciju s drugim testovima u dijagnostici disfunkcije suznog filma. Iako jednostavna i praktična u svakodnevnoj kliničkoj praksi, ova je metoda prije svega subjektivna te karakterizirana brojnim ograničenjima koji se odnose na invazivnost i posljedično refleksno suzenje, te promjene volumena suza uzrokovanih ukapavanjem fluoresceina (226). Kasnije je predstavljena reflektivna meniskometrija kao neinvazivna metoda koja je eliminirala gore navedene nedostatke, no nije zaživjela u kliničkoj praksi zbog tehničke zahtjevnosti (227). Kvantitativna procjena najčešćih parametara kao što su visina i zakrivljenost suznog meniska uz pomoć OCT-a prednjeg segmenta, omogućila je objektivniju analizu u odnosu na mjerenja učinjena na biomikroskopu. Nedostaci ove metode su kompleksnost analize, potreba za validiranom softverskom nadogradnjom, ovisnost mjerenja o treptanju i poziciji glave pacijenta za vrijeme snimanja, kao i refleksno suzenje (19). Lee i sur. su analizirali dvije metode neinvazivne meniskometrije, i to uz pomoć filter papira (eng. *Strip meniscometry*; SM) i Oculus keratografa na grupama pacijenata sa suhim okom u odnosu na zdrave kontrole. Zanimljivost ovog istraživanja je podatak prema kojemu su grupe pacijenata sa ne-Sjögrenovim hiposekrecijskim suhim okom analizirane prema prisutnosti disfunkcije Meibomovih žlijezdi. Rezultati ovog istraživanja su potvrdili korisnost kvantitativne procjene suznog meniska u dijagnostici i detekciji hiposekrecijskog suhog oka, te

pokazali značajnu korelaciju oba testa sa drugim konvencionalnim parametrima očne površine, no i slabiju dijagnostičku točnost u prisutnosti MGD komponentne (218).

1.7.5.2. Schirmerov test

Schirmerov test je prvi predstavio njemački oftalmolog Schirmer, 1903. godine (6). Od tada je jedan od najčešće korištenih testova u rutinskoj oftalmološkoj kliničkoj praksi. Dijagnostička vrijednost ovog testa je prije svega u detekciji hiposekrecijskog suhog oka. Osim toga, vrijednosti Schirmer testa ≤ 5 mm kroz 5 minuta su navedene kao dijagnostički kriterij Sjögrenovog sindroma prema preporukama Američkog društva za reumatologiju i Europske lige protiv reumatskih bolesti (229). Tradicionalno, test se izvodi uz pomoć filter papira veličine 5 x 35 mm koji se postavlja u donji forniks na granici vanjske i srednje trećine donje vjeđe. Pacijent gleda prema gore i trepće spontano. Rezultati testa se očitavaju nakon 5 minuta prema navlaženom dijelu mjerne skale. Postupak bez anestezije je standardizirana varijanta testa, kojom se pak aktivira refleksno suženje. Iako je prema nekim istraživanjima varijanta testa uz primjenu lokalne anestezije pouzdanija i objektivnija, ipak nije bilo dovoljno dokaza o ponovljivosti i specifičnosti testa (230). S obzirom da se refleksna sekrecija pojavljuje i nakon primjene lokalne anestezije, preporučeni je standardizirani postupak testa bez anestezije (8). Također, pokazano je da provedba testa sa zatvorenim očima osigurava manje varijabilnosti rezultata (231). Granične vrijednosti testa variraju od ≤ 5 mm do ≤ 10 mm kroz 5 minuta, uz osjetljivost do 85 % i specifičnost do 83 % (19, 215, 232). Varijacija ovog testa je primjer neinvazivne meniskometrije koju je Dogru predstavio 2006. godine, a uključuje primjenu filter papira sa impregniranom plavom bojom koji se postavlja u donji forniks na istoj poziciji kao i Schirmer, ali bez kontakta s donjom vjeđom kroz 5 sekunda (Slika 7.) (233).



Slika 7. Promjena visine meniska prije (A) i nakon primjene filter papira (B i C) (233).

Predložene su granične vrijednosti od ≤ 4 mm. Specifičnost ovog testa doseže i 99 % u kombinaciji s TBUT-om, a rezultati kvantitativne procjene donjeg meniska značajno koreliraju s onima dobivenima nakon mjerenja prednjim OCT-om (234). Nekoliko je studija dokazalo značajnu korelaciju ove metode sa vrijednostima konvencionalnog Schirmer testa, kao i sa znakovima i simptomima disfunkcije suznog filma (235, 236). Štoviše, rezultati meniskometrije uz pomoć filter papira su značajno korelirali sa simptomima i znakovima disfunkcije suznog filma, pa i u slučajevima gdje Schirmer test, nije (235).

Zaključno, metoda procjene volumena meniska uz pomoć filter papira je s obzirom na jednostavnost, pouzdanost i neinvazivnost, korisna i dobra metoda procjene funkcije suznog filma, i to na razini rutinske primjene u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

1.7.6. PROCJENA SASTAVA I KVALITETE SUZNOG FILMA

1.7.6.1. Mjerenje osmolarnosti suznog filma

Hiperosmolarnost suznog filma je patofiziološka podloga u svim etiološkim kategorijama disfunkcije suznog filma. Smatra se njenim najpotentnijim pojedinačnim znakom, kao i objektivnim pokazateljem težine kliničke slike s obzirom na značajnu korelaciju, ali i utjecaj izraženosti disfunkcije suznog filma na osmolarnost suza (100, 218, 237). Granične vrijednosti osmolarnosti suznog filma prema različitim istraživanjima variraju od 305 mOsm/L do 316 mOsm/L (237 - 239). Istraživanja koja su koristila graničnu vrijednost osmolarnosti od 316 mOsm/L, pokazala su osjetljivost od 59 do 81 %, specifičnost 78 do 94 % te pozitivnu prediktivnu vrijednost od 89 % (128, 240). Upravo je nestabilnost suznog filma jedan od razloga različitim predloženim graničnim vrijednostima osmolarnosti (241). S težinom kliničke slike raste i osmolarnost suznog filma, pa su prosječne predložene vrijednosti kod zdravih ljudi 302 +/- 8 mOsm/L, a kod blage do umjerene kliničke slike 315 +/- 10 mOsm/L te 336 +/- 22 mOsm/L u izraženijim oblicima disfunkcije suznog filma (100, 218). Granična vrijednost od 308 mOsm/L pouzdano razlikuje blage oblike disfunkcije suznog filma od zdravih kontrola, pa se danas smatra najprihvaćenijom predloženom graničnom vrijednosti u svakodnevnoj kliničkoj praksi (100). S druge strane, granična vrijednost osmolarnosti

od 316 mOsm/L bolje razlikuje izražene kliničke oblike disfunkcije suznoa filma od umjerenih i blagih oblika (239). U današnje se vrijeme osmolarnost suza mjeri komercijalno dostupnim instrumentom proizvođača TearLab, koji sadrži mikroelektrode i nema doticaja s očnom površinom pri mjerenju, a za mjerenje je potrebna iznimno mala količina suza (~0.2 μ L) (110). S obzirom da su kod zdravih ljudi iznimno male varijacije u osmolarnosti suznog filma i da ne dolazi do razvoja hiperosmolarnosti, može se zaključiti da su hiperosmolarnost kao i značajnije varijacije u mjerenjima oba oka, visokospecifičan dijagnostički indikator disfunkcije suznog filma.

1.7.6.2. Test granjanja suza

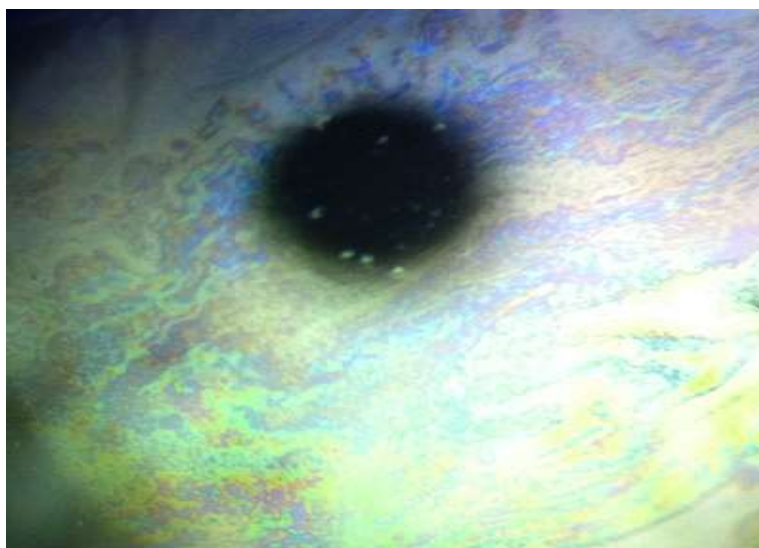
Fenomen granjanja suza detaljno je opisan u poglavlju 1.6.3.6. Test granjanja suza je pokazao visoku osjetljivost i specifičnost u dijagnostici Sjögrenog sindroma, kao i u slučajevima hiposekrecijskog suhog oka povezanog sa reumatskim bolestima (5, 19). Također, pokazao se korisnim u procjeni tolerancije nošenja kontaktnih leća i to sa osjetljivošću i specifičnošću od 78,4 % (261). S obzirom da hiperosmolarnost utječe na obrazac granjanja suza, može se zaključiti da ovaj test može biti koristan u detekciji hiperosmolarnosti suza i da elektroliti imaju određenu ulogu u procesu granjanja suza (238). Osim toga, pokazano je da granjanje suza ne ovisi o proteinima u suzama te da postoji korelacija sa volumenom suznog filma, kao i slabija korelacija sa stabilnošću suznog filma (116). U konačnici, mehanizmi koji dovode do granjanja suza i njihova povezanost sa različitim etiološkim kategorijama još uvijek nije u potpunosti razjašnjena. Stoga ovaj naizgled jednostavan i dostupan test, još uvijek nema mjesta u široj kliničkoj primjeni, no može biti koristan u kombinaciji s drugim testovima.

1.7.6.3. Procjena lipidnog sloja suza interferometrijom

Jedna od ključnih uloga lipidnog sloja je smanjenje površinske napetosti suznog filma, sprečavanje evaporacije te održanje stabilnosti suznog filma (8, 72). Stoga je procjena stabilnosti, debljine i načina formiranja lipidnog sloja na površini rožnice, važan korak u dijagnostičkom i terapijskom algoritmu disfunkcije suznog filma. Lipidni sloj se kao najpovršniji sloj suznog filma, pravilno rasprostire iznad mukozno-vodenog sloja i to djelomično iznova sa svakim treptajem sukladno Marangonijevom efektu (242). Makroskopska vizualizacija lipidnog sloja suza na očnoj površini, moguća je refleksijom bijelog svijetla s površine suznog filma neinvazivnom metodom koja se

zove interferometrija. Princip interferometrije poznat je još od Newtona (243). Temelji se na interferenciji superponiranih koherentnih valova koji se dijele na dvije identične zrake iste valne dužine, a informacije iz obrasca interferencije omogućavaju precizna mjerenja na mikronskoj razini. U oftalmologiji se interferometrijsko mjerenje svodi na interferenciju zraka reflektiranih sa površina različitog indeksa loma kao što su dodirne plohe lipidnog sloja sa zrakom i mukozno-vodenim slojem suznog filma, a što omogućava primjerice mjerenje debljine lipidnog sloja suza.

Procjena debljine lipidnog sloja se temelji na činjenici da se lipidi na površini oka vide u obrascu niza valovitih i vodoravno položenih linija različitih boja, koje sa većom debljinom lipidnog sloja postaju sve izraženije i intenzivnije obojenosti, poput ulja na vodi. S druge strane, kod tanjeg sloja lipida, linije su rijetke, okomito položene i slabijeg inteziteta boja (Slika 8.). S obzirom da je suzni film dinamička struktura, evaluacija lipidnog sloja metodom interferencije omogućava neinvazivnu procjenu vremena pucanja suznog filma (eng. *Non-invasive Break-Up Time*; NIBUT). Osim toga, evaluacija interferometrijskih uzoraka u kontekstu promjena obojenosti i stabilnosti suznog filma, omogućila je pouzdanu distinkciju kliničkih subtipova disfunkcije suznog filma (244).



Slika 8. Prikaz stanjenog lipidnog sloja suznog filma u pacijenta sa suhim okom metodom interferometrije. Linije su rijetke, vodoravno položene i slabijeg inteziteta obojenosti (19).

Semikvantitativna interferometrija je prva u literaturi opisana metoda procjene debljine lipidnog sloja. Temeljila se na uporabi difuznog filtra i procijepne svjetiljke. No, s obzirom da je ovom metodom bilo moguće pregledati tek nekoliko milimetara površine rožnice što nije dovoljno za adekvatnu procjenu debljine i stabilnosti suznog filma, ova metoda nije bila primjenjiva u rutinskoj kliničkoj praksi (245).

Prvi klinički interferometar je bio Guillonov **Tearscope** (Keeler, Windsor, UK) iz 1986. godine. Uređaj Tearscope se postavlja ispred objektiva procijepne svjetiljke. Ovim uređajem je dokazano da različiti interferencijski uzorci nastaju sukladno promjenama debljine lipidnog sloja. (246). Osim toga, omogućio je i mjerenje NIBUT-a kroz projekciju slike mrežnice na površini suznog filma. Prednost Tearscopea je uporaba hladnog izvora svjetla kojim se osvjetljava veliki dio površine oka što smanjuje mogućnost dodatnog isušivanja suznog filma, te omogućuje adekvatniju direktnu i dinamičku procjenu debljine i funkcije lipidnog sloja suza. Nedostaci ovog uređaja su prije svega nepraktičnost i financijski aspekt zbog čega više nije u proizvodnji. U današnje vrijeme je razvijen **LipiView II** interferometar (TearScience, Morrisville, NC) kao prvi komercijalno dostupan instrument za automatizirano mjerenje debljine lipidnoga sloja suza u kliničkoj oftalmološkoj praksi. Osim toga, ovaj uređaj omogućava analizu morfologije Meibomovih žlijezdi. Finis i sur. su ovim instrumentom dokazali da bi granične vrijednosti debljine lipidnog sloja od 75 nm mogle detektirati opstruktivnu formu MGD sa osjetljivošću od 65,8 % i specifičnošću od 63,4 %. S obzirom da se ovim uređajem ne mogu vizualizirati lipidi u gornjim polovima rožnice, ne može se koristiti za mjerenje NIBUT-a (247).

"Lateral shearing" interferometri pak koriste helij-neonske laserske zrake i algoritme brze Fourierove transformacije, te na eksperimentalnoj razini omogućavaju dinamičku evaluaciju suznog filma ovisno o intervalu treptaja i neinvazivnu procjenu vremena destabilizacije suznog filma s nizom kompleksnih prikaza različitih aspekata funkcije lipidnog sloja suza i patofiziologije disfunkcije suznog filma. Za sada se ova metoda koristi isključivo u znanstvenim istraživanjima (248).

Sve opisane metode su zahtijevale uporabu posebnih uređaja zasebno ili spajanjem na procijepnu svjetiljku što je osim aspekta nedostupnosti i financijske ovisnosti, prije svega nepraktično za svakodnevnu kliničku praksu. To se prvenstveno odnosilo na

Tearscope koji je kao metoda direktne vizualizacije i dinamičke procjene lipidnog sloja suza, bio iznimno važan i koristan u procjeni debljine lipidnog sloja suza te u mjerenju NIBUT-a, no skup i nedostupan većini oftalmologa. K tomu se i prestao proizvoditi zbog slabije prihvaćenosti. Kasnije se u literaturi pojavio opis **ručnog instrumenta** za procjenu debljine lipidnog sloja suza autora Petriček I. (249). Taj se instrument poput Tearscopea također koristi fenomenom interferometrije za procjenu debljine lipidnog sloja suza. No, za razliku Tearscopea nije vezan za procijepnu svjetiljku, već ga ispitivač drži u ruci. Radi se o modificiranoj ručnoj LED lampi kojom se projicira difuzno, hladno bijelo svjetlo na površinu oka, a suzni film se potom promatra procijepnom svjetiljkom. Istodobno je moguće pregledati oko 20% površine rožnice, no pomicanje instrumenta osigurava pregled čitave površine oka. Refleksija svjetla omogućava vizualizaciju lipida na površini oka te procjenu debljine lipidnog sloja na osnovi izgleda i obojenosti valovitih interferometrijskih linija.

Osim toga, ručni instrument se može koristiti i za pouzdano mjerenje NIBUT-a. Trenutak pucanja suznog filma se vizualizira pojavom iregularnih tamnih zona nalik pukotinama. Ovaj je instrument za razliku od prethodno opisanih, jednostavan, praktičan i dostupan. Iako jednostavan i niske cijene, do sada nije pokrenuta komercijalna proizvodnja ovog ručnog instrumenta veličine džepne svjetiljke. No, farmaceutske kompanije su proizvele nekoliko stotina primjera i bez naknade distribuirale brojnim oftalmološkim centrima diljem Europe. Zbog svoje primjenjivosti i pouzdanosti u procjeni debljine i stabilnosti suznog filma, autor ručnog instrumenta predlaže njegovo uključivanje u dijagnostički algoritam disfunkcije suznog filma, i to rutinski u svakodnevnoj kliničkoj praksi (249).

1.7.6.4. Procjena stabilnosti suznog filma

Stabilnost suznog filma je odraz njegove uredne funkcije i balansa svih komponenti uključujući i njihove složene interakcije u dinamičkim procesima protoka suza, evaporacije i treptanja. Stoga je procjena stabilnosti važna u razumijevanju integriteta suznog filma kao i homeostaze svih struktura očne površine. Nestabilnost suznog filma je pak uz osmolarnost navedena kao osnovni patofiziološki koncept razvoja disfunkcije suznog filma, i to u svim etiološkim kategorijama što je posebno naglašeno u definiciji disfunkcije suznog filma oka koju su predložili međunarodnih stručnjaci iz 2017. i 2020. godine (1, 15). Kod zdravih pojedinaca pri otvorenom oku,

suzni film ostaje dugo stabilan i to do jedne minute unatoč treptanju (94, 95). S vremenom se destabilizira, stanjuje i puca što se makroskopski vidi kao pojava pukotina ili točaka na površini rožnice, a vrijeme proteklo od treptaja do opisanih fenomena bilježi se kao temeljni način procjene stabilnosti suznog filma i ključni klinički test u dijagnostičkom algoritmu disfunkcije suznog filma (eng. *Tear film break-up time*; TBUT) (11). Metode procjene stabilnosti suznog filma mogu biti invazivne ili neinvazivne (19). Invazivne metode uključuju primjenu otopine fluoresceina u različitom volumenu i koncentraciji za lakšu vizualizaciju površine suznog filma na rožnici. Neinvazivne metode pak ispituju stabilnost suznog filma u njegovom nativnom, fiziološkom obliku. To znači bez kapanja oka ili bilo kakve dodatne manipulacije što osigurava točniju i pouzdaniju procjenu stabilnosti suznog filma. Površina suznog filma se vizualizira refleksijom svjetla, koncentričnih krugova ili slike s površine rožnice. Neinvazivne metode su zato iznimno popularne u istraživačkom svijetu, iako rijetko prisutne u svakodnevnoj kliničkoj praksi zbog slabije dostupnosti i primjene visokospecijaliziranih i skupih uređaja (19).

1.7.6.4.1. Invazivni fluoresceinski test pucanja suznog filma

Invazivni fluoresceinski test vremena pucanja suznog filma (eng. *Tear break-up time*; TBUT) je prvi puta opisao Norn 1969. godine (250). Unatoč invazivnosti te različitim i nestandardiziranim postupcima primjene, i dalje je najizvođeniji te najprihvaćeniji klinički test u dijagnostici disfunkcije suznog filma u rutinskoj kliničkoj praksi (19, 251). Provodi se ukapavanjem fluoresceinske otopine različitog volumena i koncentracije (1 % i 2 %) ili doticanjem spojnice komercijalno dostupnim impregniranim trakicama.

Osim standardiziranih, postoje i različite modificirane trakice manjeg promjera koje su pokazale bolju pouzdanost i ponovljivost mjerenja (252, 253). Čak 80 % ispitanika nije osjetilo iritaciju pri dodiru sa spojnicom u odnosu na 30% ispitanih sa standardiziranim trakicama (252). Ukapavanje dodatnog volumena u oko pak narušava fiziološku ravnotežu suznog filma i dodatno stanjuje lipidni sloj s posljedičnom pojačanom evaporacijom suza, pa stoga sami princip izvođenja testa smanjuje stabilnost suza što u konačnici ne daje stvarni prikaz funkcije suza (254). Upravo je to jedan od razloga što su vrijednosti TBUT-a niže od NIBUT-a (253). Kim i sur. predlažu aplikaciju 1 μ l 5 % otopine fluoresceina uz pomoć mikropipete za veću pouzdanost mjerenja (255).

Tradicionalno test se izvodi na način da se ispitanika zamoli da trepne 3 do 5 puta, a potom održava oko otvorenim. Površina suznog filma se promatra procijepnom svjetiljkom i kobaltno plavim svjetlom, te se bilježi vrijeme proteklo od otvaranja oka do pojave nepravilnosti na površini oka. Nepravilnosti u obliku pukotina se vide kao tamne zone u fluoresceinu (250) (Slika 9.).



Slika 9. Prikaz pucanja suznog filma na površini oka za vrijeme izvođenja TBUT-a. Tamne zone u fluoresceinom obojenom suznom filmu predstavljaju pukotine (190).

Međutim forsirano treptanje te održavanje oka otvorenim može utjecati na sekreciju i distribuciju lipida, te s druge strane i stanjenje lipidnog sloja suza uslijed povećanja vjeđnog rasporka (68). Unatoč navedenim negativnostima, novija istraživanja potvrđuju dijagnostičku točnost fluoresceinskog TBUT-a (256, 257). Štoviše, Paugh i sur. su dokazali izvrsnu dijagnostičku točnost TBUT testa sa fluoresceinskom otopinom koristeći različite koncentracije i volumene i to 5,0 μ l 2.0 % otopine ili 2,0 μ l 1,0 % otopine sa predloženim graničnim vrijednostima (eng. *cut-off*) od 5,3 do 6 sekunda. Osim toga, uspoređivane su različite metode automatiziranih mjerenja koje nisu pokazale značajnu statističku razliku u rezultatima između grupa ispitanika sa suhim okom i zdravih kontrola, iako su primjećene diskretne razlike u grupi ispitanika sa disfunkcijom Meibomovih žlijezdi (256). Ti su rezultati u suprotnosti s prethodnim istraživanjima Korba i sur., koji prednost daju modificiranim metodama s minimalnim volumenom (252).

Ključno pitanje je bilo vezano uz volumen aplicirane otopine fluoresceina te potencijalne razlike u mjerenjima između različitih metoda s malim volumenom fluoresceina. Pokazano je da 2,0 μ l 1,0 % otopine ima jednake rezultate kao i modificirane trakice s manjim volumenom fluoresceina, te da kod te koncentracije

nema fenomena samoapsorpcije boje (258). Upravo zbog toga je potrebno određeno vrijeme do postizanja fluorescencije na oku, osobito u slučaju veće koncentracije fluoresceina na oku, kada se predlaže odgoda od jedne do dvije minute prije početka mjerenja. (258). Johnson i Murphy pak nisu dokazali značajne razlike u mjerenjima kod primjene standardiziranih trakica i apliciranog volumena od 1,0 μ l otopine fluoresceina kod zdravih ispitanika (259). Najčešće mjesto pucanja suznog filma je donja polovica rožnice što se objašnjava teorijom nepotpunog treptanja i većoj izloženosti donje rožnice evaporaciji (260). Yokoi i sur. su 2017.godine predložili klasifikaciju disfunkcije suznog filma na osnovu pet različitih obrazaca fluoresceinskog pucanja suznog filma: zonalno, mjestimično, nasumično, linearno i rupičasto (261). Najučestaliji obrazac je linearni, odnosno pukotinasti, i to u 51,6 % slučajeva (262). Kako bi se povećala točnost i pouzdanost mjerenja, Cho i sur. predlažu 3 uzastopna mjerenja TBUT-a (263). Grupa istraživača u radu iz 2021. godine predlaže najveću vrijednost TBUT-a od učinjena 3 mjerenja kao pouzdani klinički znak bolesti suhog oka, s obzirom na pozitivnu korelaciju sa Schirmer testom i simptomima bolesti suhog oka (257). U istom istraživanju je prvo mjerenje zbog nepotpunog treptanja najčešće bilo i najniže, što je kompaktibilno s rezultatima koje su objavili Braun i sur. (264).

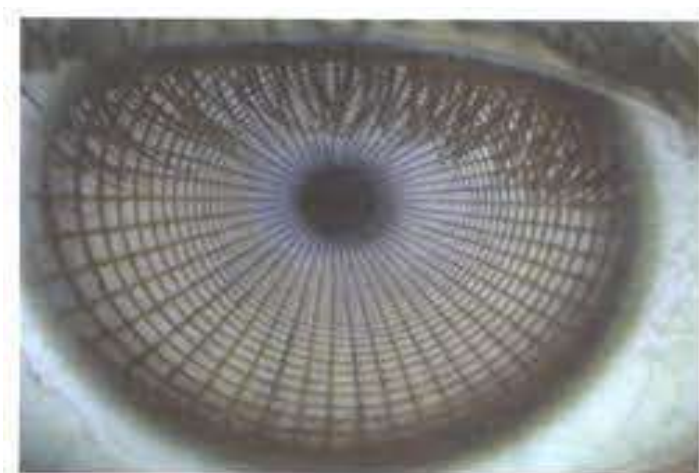
Nažalost, još uvijek ne postoji dogovor vezano uz granične vrijednosti testa koje bi sigurno razlikovale suho oko od zdravih kontrola. Lemp predlaže graničnu vrijednost TBUT-a od 10 sekunda pri čemu se vrijednosti manje od 5 sekunda smatraju specifičnim znakom bolesti suhog oka, a vrijednosti između 5 i 10 sekunda, graničnim znakom (100). Korb i Downie pak u svojim istraživanjima kao graničnu vrijednost TBUT-a predlažu vrijednost od 7,5 sekunda (252, 265). Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II) kao i smjernice Američkog društva za oftalmologiju (PPP AAO) predlažu graničnu vrijednost TBUT-a od 10 sekunda, dok Azijsko društvo za suho oko (ADES) predlaže nižu vrijednost od 5 sekunda (19, 14, 12).

Mnoštvo faktora može utjecati na pouzdanost mjerenja. To su prije svega različiti okolišni i unutrašnji faktori poput iskustva i pristranosti ispitivača, potom koncentracija i volumen fluoresceina na očnoj površini, različita metoda primjene fluoresceina, karakteristike i obrazac treptanja, distribucija suznog filma, vlažnost i temperatura zraka (208, 264, 266). Unatoč brojnim nedostacima i manjku standardizacije, pa i nepostojanju dogovora oko graničnih vrijednosti, TBUT je i dalje klinički najpraktičniji i najprihvaćeniji test procjene stabilnosti suznog filma, te najvažniji ili jedan od

najvažnijih dijagnostičkih kriterija disfunkcije suznog filma prema smjernicama radne skupine NEI / Industry Workshop, Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II), Američkog udruženja za suho oko (*Practice Preference Pattern*), potom Azijskog društva za suho oko (ADES) te skupine međunarodnih stručnjaka (eng. *New Global Consensus Definition*) (11, 1, 14, 12, 15).

1.7.6.4.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma

Internacionalna radna skupina za suho oko (DEWS II) u svojim smjernicama ističe prednost korištenja različitih tehnika neinvazivnog testa pucanja suznog filma, kad god je to moguće (19). Neinvazivni test pucanja suznog filma (eng. *Non-invasive tear break-up time*; NIBUT) je po svojoj prirodi neinvazivan što znači da se u oko ništa ne kapa niti se dotiče, a suzni film se promatra u svom fiziološkom obliku. Osim toga, ne zahtijeva primjenu forsiranog treptanja, kao niti održavanja oka otvorenim čime se eliminiraju brojni nedostaci vezani uz fluoresceinski TBUT test. Usprkos širokoj primjeni u svakodnevnoj kliničkoj praksi i novijim istraživanjima koji ukazuju na pouzdanost i točnost, fluoresceinski TBUT je prvenstveno prepoznat kao test koji ima slabiju točnost i reproducibilnost (267). Upravo zbog toga je NIBUT iznimno popularan u kliničkom i istraživačkom svijetu. Njime se dobivaju pouzdaniji podaci o stabilnosti i funkciji suznog filma. Površina suznog filma se za razliku od fluoresceinskog TBUT-a, promatra u refleksiji svjetla, koncentričnih krugova ili slike projiciranih na površini oka (slika 10.).



Slika 10. Neinvazivni test pucanja suznog filma (190).

Pojava površinskih nepravilnosti i tamnih zona su znak pucanja suznog filma, a vrijeme proteklo od otvaranja oka do pojave opisanih nepravilnosti bilježi se kao vrijeme

pucanja suznog filma (268). Mnoštvo je opisanih metoda kojima se mjeri NIBUT. Primjerice, već prethodno opisani princip interferometrije je primjer neinvazivne procjene stabilnosti suznog filma u kojemu se bilježi vrijeme od otvaranja oka do pojave pukotina u površinskom lipidnom sloju kao znak destabilizacije i pucanja suznog filma (72). Međutim, LipiView (TearScience, Morrisville, NC) kao jedini komercijalno dostupan instrument za kliničku primjenu, a koji koristi ovu tehnologiju, nije pogodan za mjerenje NIBUT-a jer omogućava analizu suznog filma isključivo na donjoj polovici rožnice (247). S obzirom da mjesto destabilizacije ili pucanja suznog filma može biti na bilo kojem mjestu, te da su istraživanja pokazala da to najčešće uz gornji rub vjeđe, najpouzdanija metoda je ona kojom se osigurava nesmetana vizualizacija čitave površine oka (246). Upravo zbog toga je već opisani ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza, a koji se koristi principom interferometrije, pouzdan i koristan instrument u svakodnevnoj kliničkoj praksi kojim se omogućuje jednostavno, brzo i pouzdano mjerenje NIBUT-a (249, 269). Mjerenje NIBUT-a Tearscopeom kao i ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja je primjer subjektivnih metoda koje ovise o iskustvu ispitivača. Nichols i sur. su dokazali značajnu varijabilnost rezultata u mjerenjima NIBUT-a Tearscopeom između različitih ispitivača, iako su vrijednosti NIBUT-a kolerirale s debljinom lipidnog sloja (270). Vrijednosti NIBUT-a su umjereno korelirale s vrijednostima TBUT-a kod zdravih ispitanika iako su bile prosječno duže za $3,7 \pm 12,0$ sekunda. Kod ispitanika sa suhim okom je pak dokazana snažna korelacija TBUT-a i NIBUT-a, a vrijednosti NIBUT-a su 90 % vremena bile duže i to za $1,85 \pm 1,48$ sekunda (271).

Osim subjektivnih, postoji i čitav niz objektivnih metoda koje uključuju primjenu automatiziranih uređaja i kompjuterizirane digitalne tehnologije. To se prvenstveno odnosi na različite uređaje za kornealnu topografiju sa posebno razvijenim softverskim sustavima koji mogu detektirati iregularnosti na površini suznog filma kao promjene refraktivne snage rožnice, i to kao dinamičku procjenu kroz vrijeme. Dva komercijalno dostupna uređaja za automatizirano mjerenje NIBUT-a su Oculus Keratograph K5 (Wetzlar, Njemačka) s ugrađenim softverskim sustavom za analizu površinskih iregularnosti suznog filma kroz vrijeme, i to koristeći tehnologiju infracrvenih valova te Tomey RT-7000 (Tomey Corporation, Nagoya, Japan) koji pak mjeri svjetlinu refleksije s cijele površine suznog filma (272, 179). Lee i sur. su uspoređujući dva navedena uređaja u mjerenju NIBUT-a dokazali slabu korelaciju, a vrijednosti NIBUT -a su kod

pacijenata sa suhim okom prosječno iznosile 4,2 i 6,4 sekunda (273). Računalni program za analizu stabilnosti suznog filma (eng. *Tear Film Stability Analysis System*; TSAS) koristi metodu kornealne topografije za analizu površine suznog filma svake sekunde kroz period od 10 sekunda (274). Vrijednosti NIBUT-a su u istraživanjima koja su koristila ovu tehnologiju, iznosile prosječno 6 sekunda za zdrave ispitanike te 1,2 sekunda za ispitanike sa suhim okom. Primjenom novije verzije TSAS-a, dobivene su još niže prosječne vrijednosti za zdrave ispitanike i to 4,91 sekunda, što ukazuje na izrazitu osjetljivost metode mjerenja, no i ujedno se i nameće pitanje što se zapravo tom metodom mjeri (275). Vrijednosti NIBUT-a blizu nule dobivene objektivnim metodama su vjerojatni znak površinskih iregularnosti poput staničnog debrisa u suzama, prije nego li posljedica stanjenja suznog filma uslijed pojačane evaporacije. S obzirom da su tako niske vrijednosti za zdrave kontrole usporedive s preporučenim graničnim vrijednostima za fluoresceinski TBUT, može se pretpostaviti da oba testa ne mjere iste fenomene te da nisu usporedivi. S obzirom da je radi o specijaliziranoj i skupoj opremi koja zahtijeva određeno znanje i iskustvo pri korištenju, velikoj većini praktičara zapravo nije niti dostupna.

Osjetljivost NIBUT-a ovisno o primijenjenoj metodi iznosi 82 - 84%, a specifičnost 76 - 94 % (265, 276, 277). Internacionalna radna skupina predlaže graničnu vrijednost NIBUT-a od ≤ 10 sekunda za subjektivne metode, a za objektivne značajno nižu vrijednost i to 2,7 sekunda (19).

1.7.7. DIJAGNOSTIČKE METODE PROCJENE DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA - ZAKLJUČAK

Mnoštvo predloženih definicija disfunkcije suznog filma koje su se mijenjale kroz povijest te nepostojanje globalno prihvaćenog prijedloga definicije i dijagnostičkih kriterija, upućuje na kompleksnost i zamršenost patofiziologije i kliničke ekspresije naizgled jednostavne, a tako česte i za javnozdravstveni sustav značajne bolesti. Ključne razlike među predloženim definicijama su prije svega patofiziološki aspekti. Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II) u novoj i revidiranoj definiciji iz 2017. godine, naglašava gubitak homeostaze suznog filma kao ključnu

patofiziološku podlogu disfunkcije suznog filma ne ističući isključivo određeni aspekt (1). Nestabilnost suznog filma je prema toj radnoj skupini sekundarni kriterij. S druge strane, Azijsko društvo za suho oko (ADES), Američka akademija za oftalmologiju s praktičnim smjernicama i međunarodna skupina stručnjaka s novom globalnom definicijom i dijagnostičkim kriterijima bolesti suhog oka (New Global Consensus Definition), ističu nestabilnost suznog filma i prisutnost subjektivnih simptoma kao primarne dijagnostičke kriterije s posebnim osvrtom na kliničku prezentaciju bolesti suhog oka te dostupnost potrebnog instrumentarija sa aspekta svakodnevne kliničke prakse (12, 14, 15). Štoviše, ADES i međunarodna skupina stručnjaka predlažu isključivo fluoresceinski TBUT kao jedini potrebni dijagnostički test što je između ostalog praktično, jednostavno i dostupno rješenje sa aspekta svakodnevne kliničke prakse (12, 15). Obje radne skupine navode prisutnost simptoma bolesti suhog oka i $TBUT \leq 5$ sekunda kao jedine dijagnostičke kriterije za sigurnu dijagnozu bolesti suhog oka. Osim toga, Yokoi i sur. su prvi predložili klasifikacijski sustav bolesti suhog oka na osnovi izgleda i mjesta pucanja suznog filma, te sukladno predloženim etiološkim kategorijama i teoriji dinamike suznog filma, kasnije i razvili dijagnostički i terapijski koncept prema zahvaćenim slojevima suznog filma (eng. *Tear-film-oriented diagnosis*; TFOD, *Tear-film-oriented therapy*; TFOT) (261, 278). S obzirom na slabu povezanost znakova i simptoma bolesti suhog oka, te da do danas ne postoji adekvatna metoda kojom bi se ispitivale neurosenzorne abnormalnosti navedene u definicijama TFOS DEWS II i međunarodnih stručnjaka iz 2020. godine, buduća klinička ispitivanja bi trebala biti vođena u tom smjeru. Internacionalna radna skupina u svojim izvještajima naglašava multiplu patofiziološku podlogu bolesti suhog oka navodeći hiperosmolarnost i nestabilnost suznog filma, upalu, oštećenje očne površine te neurosenzorne abnormalnosti kao ključnih patofizioloških odrednica te bolesti, a što je u kontekstu znanstvenih i kliničkih istraživanja potpunija i vjerodostojnija definicija u odnosu na preporuke ADES i međunarodnih stručnjaka iz 2020.godine, koje su pak usmjerene na klinički aspekt i zapažanja ispitivača (1, 19).

Zaključno, pregledom recentnih istraživanja evidentno je da ne postoji pojedini dijagnostički test kojim se može u cijelosti ispitati suzni film, kao i svi aspekti funkcije suznog filma. Također, svaka pravovaljana dijagnostika disfunkcije suznog filma bi trebala uključivati bateriju testova pri čemu je potrebno voditi računa o mogućem međusobnom utjecaju različitih primijenjenih dijagnostičkih metoda. Stoga, njihov

redosljed treba biti sukladno kriteriju invazivnosti počevši od najmanje invazivne pretrage. Osim toga, potrebno je uzeti u obzir i druge aspekte koji mogu utjecati na rezultate mjerenja, a koje nije moguće eliminirati u svakodnevnoj kliničkoj praksi poput subjektivnosti i iskustva ispitivača, različitog pristupa pojedinoj metodi, potom dostupnosti i utjecaju instrumentarija i u konačnici, aspekt utjecaja ambijentalne temperature i vlažnosti zraka.

TFOS DEWS II u svojim smjernicama iz 2017. godine ističe prisutnost simptoma i jednog pozitivnog markera homeostaze suznog filma kao dijagnostičkih kriterija bolesti suhog oka. Preporučeni je slijedeći algoritam dijagnostičkih pretraga (19):

1. Utvrđivanje prisutnosti simptoma bolesti suhog oka kroz anamnezu i upitnike:

DEQ-5 \geq 6 ili OSDI \geq 13

2. Procjena markera homeostaze suznog filma:

a) procjena stabilnosti suznog filma: NIBUT < 10 s (fluoresceinski TBUT samo onda kada NIBUT nije moguće provesti)

b) mjerenje osmolarnosti suznog filma (TearLab ili drugi uređaj): \geq 308 mOsm/L ili interokularna razlika > 8 mOsm/L

c) bojenje očne površine vitalnim bojama: lizamin zelena boja za spojnicu (>9) i fluorescein za rožnicu (>5).

2. HIPOTEZA

Ispitanici sa širim vjeđnim rasporkom u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed, iste životne dobi i spola, imat će izraženije subjektivne simptome i kliničke znakove disfunkcije suznog filma.

3. CILJEVI RADA

3.1. OPĆI CILJ

Cilj istraživanja je ispitati utjecaj širine vjeđnog rasporka mjerene u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed na disfunkciju suznog filma.

3.2. SPECIFIČNI CILJEVI

- Ispitati postojanje razlike u širini vjeđnog rasporka između dviju ispitivanih dobnih skupina te između žena i muškaraca unutar ispitivanih skupina.
- Ispitati postojanje razlike u subjektivnim simptomima i kliničkim znakovima disfunkcije suznog filma između ispitivanih dobnih skupina te između žena i muškaraca unutar skupina.
- Ispitati povezanost širine vjeđnog rasporka sa subjektivnim simptomima i kliničkim znakovima disfunkcije suznog filma.
- Ispitati mogućnost razlikovanja hiperevaporativnog i hiposekrecijskog suhog oka na temelju simptoma i mjerenjem širine vjeđnog rasporka.
- Ispitati ponovljivost i praktičnost metode mjerenja širine vjeđnog rasporka plastičnim milimetarskim ravnalom.
- Ispitati relevantnost metode mjerenja širine vjeđnog rasporka plastičnim milimetarskim ravnalom za danu problematiku.

4. MATERIJALI I METODE (ISPITANICI – UZORAK)

4.1. ETIČKA NAČELA

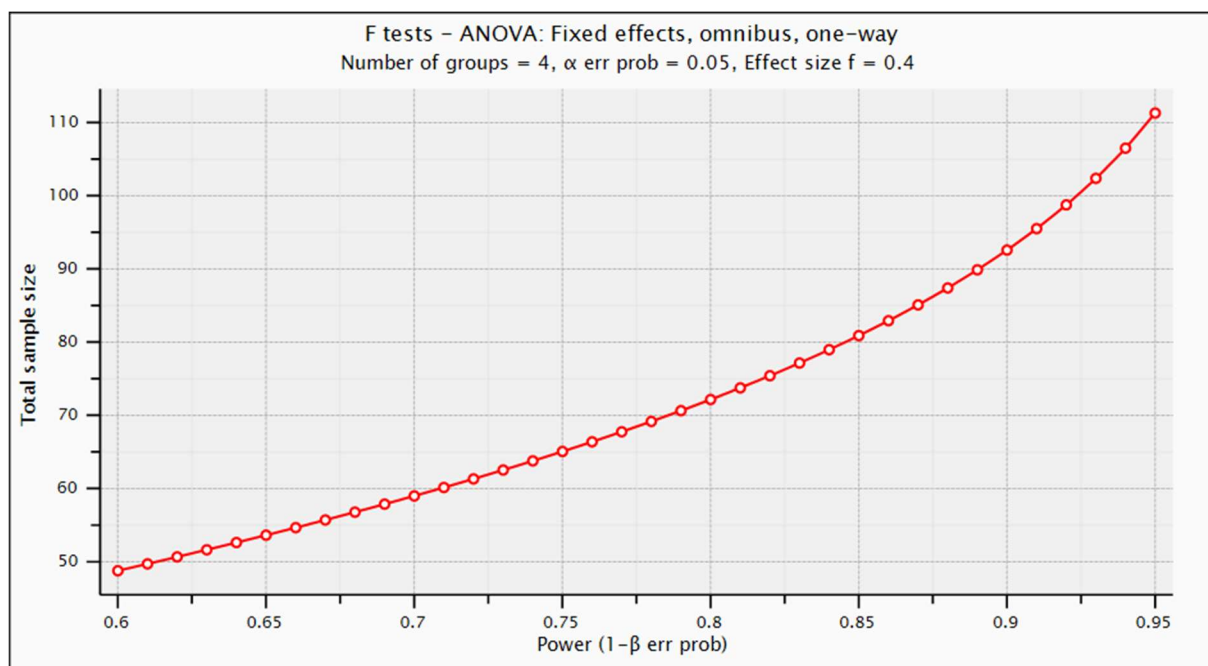
Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Provedeno je u Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb sukladno smjernicama koje se navode u Helsinškoj deklaraciji, Osnovama dobre kliničke prakse, Zakonu o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske i Zakonu o pravima pacijenata Republike Hrvatske, a čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje su sudjelovale u ovom znanstvenom istraživanju.

Istraživanje je provela pristupnica (Ana Čović, dr.med., specijalist oftalmologije) u općoj oftalmološkoj ambulanti Klinike za očne bolesti KBC-a Zagreb u razdoblju od studenog 2017. godine do veljače 2018. godine.

4.2. ISPITANICI

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 120 punoljetnih osoba obaju spolova, koje su došle na standardni oftalmološki pregled te koje su, nakon detaljnog upoznavanja s načinom provedbe i ciljem istraživanja, potpisivanjem informiranog pristanka dale svoju pismenu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju. Osobe s oftalmološkom bolešima i stanjima (očna trauma, akutne upale, glaukom, raniji operativni, rekonstruktivni i estetski zahvati na vjeđama i oku, bolesti orbite ili vjeđa poput orbitalnog celulitisa, blefaritisa i tumora vjeđa, potom anoftalmus, poznata ili suspektna distiroidna orbitopatija, nošenje kontaktnih leća) ili neoftalmološkim stanjima (bolesti štitnjače, dijabetes, reumatske i druge sistemske bolesti te lokalna ili sistemska terapija s mogućim utjecajem na funkciju suznog filma, facijalne abnormalnosti, pareza facijalnog živca, loša suradnja ispitanika) kod kojih bi sudjelovanje u istraživanju moglo dati neobjektivne rezultate, nisu bile uključene u istraživanje. Stoga su ispitanici pažljivo probrani uzimanjem detaljne osobne i oftalmološke anamneze te pregledom

prednjeg segmenta oka kako bi se utvrdili kriteriji neuključivanja u istraživanje. Ispitanici uključeni u istraživanje su nasumično prema životnoj dobi bili podijeljeni u dvije ispitivane skupine: skupina 1 (ispitanici životne dobi 18 - 50 godina) i skupina 2 (ispitanici životne dobi veće od 51 godine) uz podjednak omjera muškaraca i žena u svakoj skupini kao i ispitanika sa i bez prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. Potrebna veličina uzorka utvrđena je analizom statističke snage testa (engl. *power analysis*) primjenom statističkog programskog paketa Statistica ver. 13.3. U analizi statističke snage testa korišteni su rezultati preliminarnog istraživanja, provedenog u svrhu utvrđivanja veličine uzorka, na uzorku od 25 ispitanika u svakoj skupini (skupina ispitanika životne dobi 20 - 50 godina i skupina ispitanika životne dobi veće od 51 godine). Na temelju rezultata analize statističke snage testa, za snagu testa veću od 95%, utvrđena je potrebna veličina uzorka u istraživanju od ukupno 120 ispitanika, u obje dobne skupine po 60 ispitanika s podjednakim udjelom muškaraca i žena (30 ispitanika u svakoj od dobnih skupina) (Slika 11.).



Slika 11. Odnos veličine uzorka i snage testa.

4.3. MATERIJAL

U provedbi ovog istraživanja korištena je standardna oprema oftalmološke ordinacije: procijepna svjetiljka (BM 900, HAAG-STREIT) za pregled prednjeg

segmenta oka, fluoresceinske kapi (Fluorescein-Na 1% sol. a 10 ml, Gradska Ljekarna Zagreb) za bojenje suznog filma i defekata površine oka, ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza, kronometar za mjerenje vremena proteklog od otvaranja oka do trenutka pucanja suznog filma na površini rožnice te nesavjetljivo i prozirno plastično milimetarsko ravnalo za mjerenje širine vjeđnog rasporka u primarnom položaju oka.

Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza je modificirana LED ručna svjetiljka koja emitira snop difuznog, bijelog, hladnog svjetla jačine oko 60 lm. Veličine je džepne svjetiljke i to 10 cm dužine i 5 cm širine u najvećem promjeru. Formirana je od plastičnog konusnog kućišta kojeg prekriva difuzni bjelkasti plastični filtar promjera 5 cm te aluminijske drške promjera 2 cm (Slika 12.). Izvor svjetla čini 9 dioda koje zadovoljavaju kriterije klase 1 izvora svjetla (Class 1: eye-safe under all operating conditions; LED and Laser Classification System in EN 60825-1 and IEC 60825-1). S obzirom da se radi o izvoru hladne svjetlosti, svjetiljka ne zagrijava strukture očne površine što ju čini pogodnom za relevantnu procjenu funkcije suznog filma. Koristeći se principom interferometrije, ručni instrument omogućava procjenu debljine lipidnog sloja suza na osnovi izgleda i obojenosti interferometrijskih linija, ali i pouzdano mjerenje NIBUT-a. Uniformnom refleksijom svjetla na površini oka lako se vizualizira lipidni sloj suza i u to u čitavoj cirkumferenciji rožnice kroz pomicanje instrumenta. Trenutak pucanja suznog filma je karakteriziran pojavom iregularnih tamnih zona nalik pukotinama (249, 269).



Slika 12. Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza i plastično ravnalo

4.4. METODE

4.4.1. REDOSLIJED I OPIS PREGLEDA

Svi pregledi i ispitivanja učinjeni su u općoj oftalmološkoj ambulanti Klinike za očne bolesti KBC-a Zagreb. Osobama koje su zadovoljile kriterije uvrštavanja u ovo presječno istraživanje i koje su dale svoju pismenu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju, učinjen je slijedeći niz pretraga:

1. Utvrđivanje prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma (Scheinov upitnik)
2. Mjerenje širine vjeđnog rasporka - 3 mjerenja zaredom na oba oka
3. Procjena i evaluacija kliničkih znakova disfunkcije suznog filma:

3.1. Neinvazivni testovi:

- Procjena hiperemije spojnice
- LIPCOF
- NIBUT - 3 mjerenja zaredom na oba oka

3.2. Invazivni testovi:

- Ekspresija Meibomovih žlijezdi - samo na lijevom oku
- TBUT - 3 mjerenja zaredom na oba oka
- Bojenje rožnice fluoresceinom.

4.4.1.1. Utvrđivanje prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma

Svim uključenim ispitanicima se tijekom uzimanja anamnestičkih podataka postavila baterija standardiziranih pitanja u cilju utvrđivanja prisutnosti/odsutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. U tu svrhu, koristio se standardizirani Scheinov upitnik preveden na hrvatski jezik. Odgovori su ocjenjivani numeričkom skalom od 0 - nikada do 4 - stalno (169). Čak i jedan pozitivan odgovor u Scheinovom upitniku je označavao prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma.

Tablica 1. Scheinov upitnik preveden na hrvatski jezik (169).

Scheinov upitnik	Pitanje 1. Imate li ikada osjećaj suhoće u očima?	0 (nikada) 1 2 3 4 (stalno)
	Pitanje 2. Imate li ikada osjećaj pijeska u očima?	0 1 2 3 4
	Pitanje 3. Imate li ikada osjećaj pečenja u očima?	0 1 2 3 4
	Pitanje 4. Jesu li Vam oči ikada crvene?	0 1 2 3 4
	Pitanje 5. Imate li krustice na trepavicama?	0 1 2 3 4
	Pitanje 6. Je li Vam teško otvoriti oči ujutro?	0 1 2 3 4

4.4.1.2. Mjerenje širine vjeđnog rasporka

Mjerenje širine vjeđnog rasporka učinjeno je na samom početku pregleda, a prije svih ostalih dijagnostičkih pretraga kako bi se isključio njihov mogući utjecaj na točnost i pouzdanost mjerenja. Izvedeno je manualno pomoću nesavitljivog i prozirnog plastičnog milimetarskog ravnala. Širina vjeđnog rasporka mjerila se u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed, i to uzduž centralnog dijela zjenice mjereći vertikalni promjer između ruba gornje i donje vjeđe. U cilju dobivanja što preciznijih vrijednosti mjerenje je provedeno na procijepnoj svjetiljci i ponovljeno 3 puta zaredom za svako oko, uz diskretno postranično osvjetljenje kako bi se isključio utjecaj direktnog svjetla na nevoljno zatvaranje oka i širinu vjeđnog rasporka.

4.4.1.3. Procjena i evaluacija kliničkih znakova disfunkcije suznog filma

Dijagnostički testovi procjene znakova disfunkcije suznog filma su učinjeni na procijepnoj svjetiljci poštujući kriterije invazivnosti i prema redosljedu kojim se isključuje mogućnost međusobnog utjecaja. Stoga je pregled na samom početku uključivao procjenu hiperemije spojnice i NIBUT kao neinvazivne testove. Tek nakon tih pretraga, učinjen je niz invazivnih testova na način da je ekspresija Meibomovih žlijezdi izvedena samo na lijevom oku i prije TBUT-a, a nakon toga TBUT i procjena bojenja rožnice fluoresceinom. Procjena LIPCOF-a je učinjena na samom kraju nakon bojenja rožnice i spojnice fluoresceinom .

4.4.1.3.1. Procjena hiperemije spojnice

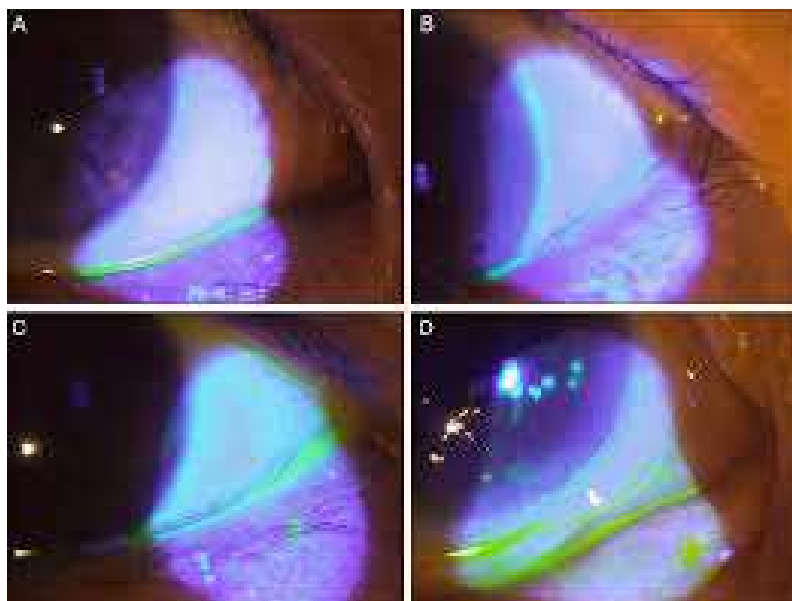
U procjeni hiperemije spojnice koristila se CCLRU (eng. Cornea and Contact Lens Research Unit) skala (279) (Slika 13.).



Slika 13. CCLRU skala (279).

4.4.1.3.2. LIPCOF

Za procjenu LIPCOF- a korišten je gradacijski sustav u 4 stupnja kojeg su predložili Höh i suradnici (203) (Slika 14.).



Slika 14. Stupnjevanje LIPCOF-a; **A.** Stupanj 0: nema nabora spojnice; **B.** Stupanj 1: jedan paralelni nabor spojnice; **C.** Stupanj 2: dva paralelna nabora; **D.** Stupanj 3: više od dva paralelna nabora iznad razine normalnog suznog meniska (203).

4.4.1.3.3. Neinvazivni test pucanja suznog filma

U ovom istraživanju korišten je slijedeći postupak mjerenja NIBUT-a ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja:

1. Ispitanika se zamoli da trepne 3 - 5 puta punim treptajem.

2. Nakon treptaja, ispitaniku je objašnjeno da prilikom testiranja nastoji držati oči otvorene bez treptaja onoliko dugo koliko je to moguće i to prirodno bez potrebe za forsiranim otvaranjem i širenjem vjeđnog rasporka.

3. Ispitivač na procijepnoj svjetiljci drži postranično ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza i osvjetljava površinu rožnice kako bi se dobila uniformna refleksija svjetla s površine suznog filma i vizualizirao lipidni sloj uz pomoć procijepne svjetiljke u povećanju 16 puta. Kako bi se dobila što uniformnija refleksija i pregledala čitava cirkumferencija rožnice, ispitivač pomiče ručni instrument u svim smjerovima i kutevima. Instrument se postavi na udaljenost nekoliko cm od oka bez doticanja vjeđa ili struktura očne površine. Ispitivač zamoli ispitanika da još jednom trepne i da potom više ne trepće kako je prethodno objašnjeno. Kronometrom se mjeri vrijeme proteklo od otvaranja oka do pojave tamnih zona ili prvih nepravilnosti u lipidnom sloju što se bilježi kao trenutak destabilizacije suznog filma.

4. Vrijeme proteklo do trenutka pojave pukotina u lipidnom sloju bilježi se u sekundama i označava kao NIBUT mjerenje.

5. Isti postupak se ponovi 3 puta zaredom, prvo na desnom oku, a potom i na lijevom oku.

6. Ukoliko se vrijednosti NIBUT-a za isto oko značajno razlikuju, mjerenje se ponavlja dok se ne dobiju 3 slične vrijednosti.

7. Ukoliko ispitanik trepne prije pojave pukotina, NIBUT vrijednost predstavlja vrijeme proteklo do trenutka treptaja (249, 269).

NIBUT se provodio tijekom pregleda na procijepnoj svjetiljci uz pomoć ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja i kronometra. Učinjena su tri uzastopna mjerenja na oba oka. Ispitivač je instrument držao u ruci postranično od oka i to na udaljenosti svega nekoliko cm od oka bez doticaja sa kožom i strukturama očne površine. Istodobno je ovim instrumentom bilo moguće pregledati oko 20% površine rožnice, a pomicanjem instrumenta i sve zone rožnice kroz uniformnu refleksiju svjetla s površine suznog filma.

4.4.1.3.4. Ekspresija Meibomovih žlijezdi

Testiranje je provedeno prema preporukama Korba i sur. (196) i to na način da se ispitaniku prisionio palac na srednju trećinu donje vjeđe neposredno uz rub čime se ispituje 6 - 8 izvodnih kanalića Meibomovih žlijezdi. Potom se laganim pritiskom vjeđa potisne prema gore kroz period od 10- tak sekunda. Ukoliko nema izlaska sekreta, isti postupak se ponovi s jačim pritiskom (196).

Korišten je sljedeći opis količine i izgleda sekreta:

1. Količina sekreta: 0 - sve žlijezde secerniraju na pritisak

1 - 3-4 žlijezde secerniraju

2 - 1-2 žlijezde secerniraju

3 - ekspresijom se ne dobiva vidljiva sekrecija (22).

2. Izgled sekreta: 0 - sekret je bistrog izgleda

1 - sekret je blago zamućen

2 - sekret je pjenušav; prisutnost detritusa u sekretu

3 - staza: sekret je poput paste za zube (22).

4.4.1.3.5. Invazivni test pucanja suznog filma

Korišten je sljedeći postupak provođenja TBUT testa:

1. Ispitaniku se ukapa 1 kap 1% fluoresceinske otopine u donji forniks oka. Ukoliko postoji, obriše se višak tekućine pamučnom krpicom preko zatvorenih vjeđa.

2. Ispitanika se zamoli da trepne 3 - 5 puta punim treptajem, a potom održava oko otvorenim prirodno kao i inače, bez forsiranog otvaranja.

3. Na procijepnoj svjetiljci se aktivira plavo kobaltno svjetlo, a ispitanika se zamoli da trepne još jednom i potom se bilježi vrijeme od trenutka otvaranja oka do pojave tamnih pukotina u suznom filmu. Vrijeme u sekundama je mjereno kronometrom.

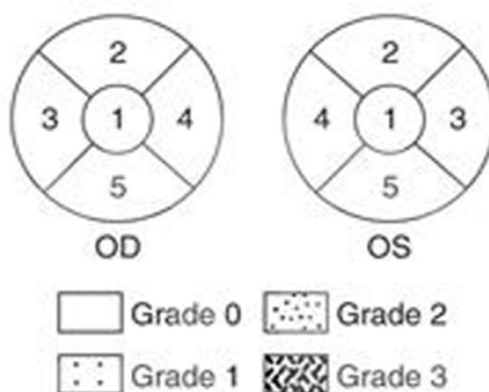
4. Dobivena vrijednost u sekundama bilježi se kao TBUT vrijednost za to mjerenje.

4. Postupak mjerenja se ponovi 3 puta zaredom, prvo na desnom, a potom i na lijevom oku.

5. Ukoliko se dobiju značajne razlike u TBUT vrijednostima, preporučljivo je mjerenje ponoviti dok se ne dobiju tri slične vrijednosti (190).

4.4.1.3.6. Bojenje rožnice fluoresceinom

U interpretaciji nalaza korištena je NEI/Industry skala prema kojoj je rožnica podijeljena u 5 zona (centralni, gornji, donji, nazalni i temporalni dio). Svako je područje bodovano od 0 do 3 prema intezitetu bojenja i to izraženosti punktiformnog keratitisa sa maksimalnim brojem od 15 bodova (Slika 15.) (8).



Slika 15. NEI skala bojenja rožnice fluoresceinom (8).

4.5. STATISTIČKA OBRADA

U obradi podataka primijenjene su deskriptivna i analitička statistika. Normalnost distribucije varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnov testom, a homogenost varijance Levenovim testom. Kontinuirane, numeričke varijable, budući su bile normalno distribuirane, prikazane su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom, ordinalne varijable medijanom i rasponom, a kategorijalne varijable apsolutnim (N) i relativnim (%) frekvencijama.

Razlike u vrijednostima kontinuiranih varijabli između skupina analizirane su parametrijskim testovima (t-test, t-test za povezane uzorke, ANOVA test za ponavljane uzorke). Za analizu razlika u vrijednostima izmjerenih nezavisnih kontinuiranih varijabli primijenjen je t-test (između dvije skupine), a za analizu razlika u vrijednostima izmjerenih zavisnih varijabli korišteni su t-test za povezane uzorke (između dvije

skupine) i ANOVA test za ponavljane uzorke (između tri skupine). Razlike u vrijednostima ordinalnih varijabli između dvije skupine analizirane su neparametrijskim testovima za nezavisne (Mann-Whitney test) i zavisne varijable (Wilcoxon test). Razlike u vrijednostima kategorijalnih varijabli između skupina ispitane su Hi-kvadrat testom. Povezanost i smjer povezanosti varijabli testirani su parametrijskim i neparametrijskim testovima (Pearsonov test korelacije, Spearmanov test rang-korelacije), a rizici prisutnosti (prediktori) disfunkcije suznog filma kao zavisne dihotomne varijable procijenjeni su binarnom logističkom regresijom.

Statistički značajnima smatrane su razlike $p < 0,05$. U analizi podataka korišten je statistički paket STATISTICA verzija 14.0 (TIBCO Inc., USA).

5. REZULTATI

5.1. OPIS ISTRAŽIVAČKOG UZORKA

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 120 osoba oba spola, među kojima 60 (50 %) muškaraca i 60 (50 %) žena. Prosječna životna dob ispitanika bila je $46,51 \pm 18,38$ godina (Med 50, Min 19, Max 87; SE 1,68).

Ispitanici su prema životnoj dobi biti podijeljeni u dvije ispitivane skupine:

Skupina 1 (N=60) je obuhvaćala ispitanike životne dobi 18-50 godina

Skupina 2 (N=60) je obuhvaćala ispitanike životne dobi veće od 51 godine.

5.1.1. DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA

U Tablici 2. prikazana su demografska obilježja ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi. Prosječna životna dob ispitanika skupine 1 bila je $30,97 \pm 9,24$ godine (Med 28, Min 19, Max 50; SE 1,19), a ispitanika skupine 2 $62,05 \pm 10,23$ godine (Med 59, Min 51, Max 87; SE 1,32).

Tablica 2. Demografska obilježja ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t^a Chi^b	p
Životna dob (god.)*	30,97±9,24	62,05±10,23	-17,468 ^a	<0,001 ^a
Spol (m/ž)**	30/30 (50/50)	30/30 (50/50)	0,000 ^b	1,000 ^b

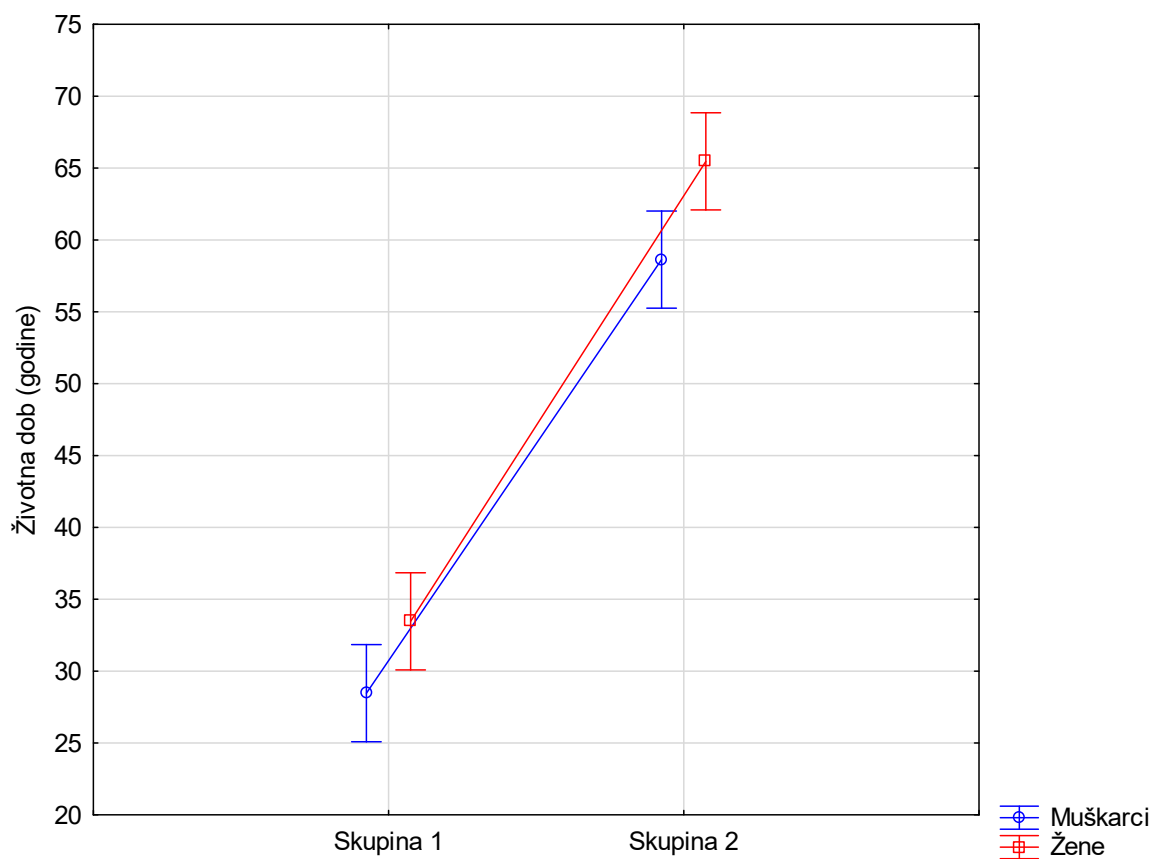
* $\bar{x} \pm SD$ ** N (%) ^a t-test df = 118 ^b Hi-kvadrat test df = 1

Ispitanici obje skupine nisu se razlikovali po spolu. U obje skupine bio je identičan broj osoba muškog i ženskog spola (Tablica 2.), i u obje skupine su osobe ženskog spola bile statistički značajno starije od osoba muškog spola (Tablica 3., Slika 16.).

Tablica 3. Životna dob ispitanika muškog i ženskog spola podijeljenih u dvije ispitivane dobne skupine.

	Muškarci (N=60)	Žene (N=60)	t	p
Skupina 1 Životna dob (god.)	28,47±8,00	33,47±9,82	-2,160	0,035
Skupina 2 Životna dob (god.)	58,63±9,88	65,47±9,54	-2,725	0,008

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 58



Slika 16. Usporedba životne dobi ispitanika muškog i ženskog spola podijeljenih u dvije ispitivane dobne skupine.

5.2. ŠIRINA VJEDNOG RASPORKA

Provedena su tri mjerenja širine vjednog rasporka desnog i tri mjerenja širine vjednog rasporka lijevog oka (Tablica 4.). Vrijednosti širine vjednog rasporka u ispitanika mlađe životne dobi (skupina 1) kretale su se u rasponu od 9 do 13,5 mm, a vrijednosti iste u ispitanika starije životne dobi (skupina 2) u rasponu od 7 do 12,5 mm. Skupine ispitanika su se statistički značajno razlikovale u sva tri mjerenja širine vjednog rasporka desnog i lijevog oka ($p < 0,001$). Ispitanici starije životne dobi imali su statistički značajno manju širinu vjednog rasporka desnog i lijevog oka u svim mjerenjima nego ispitanici mlađe dobi. ANOVA testom za ponavljane uzorke nije utvrđena statistički značajna razlika između tri mjerenja širine vjednog rasporka desnog i lijevog oka unutar ispitivanih skupina ($p > 0,05$).

Tablica 4. Tri mjerenja širine vjednog rasporka desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t ^a	p ^a
1. Širina vjednog rasporka desnog oka (mm) (N=60)	10,94±0,91	9,26±1,08	9,248 ^a	<0,001 ^a
2. Širina vjednog rasporka desnog oka (mm) (N=60)	10,95±0,88	9,28±1,11	9,133 ^a	<0,001 ^a
3. Širina vjednog rasporka desnog oka (mm) (N=60)	10,90±0,87	9,28±1,06	9,086 ^a	<0,001 ^a
1. Širina vjednog rasporka lijevog oka (mm) (N=60)	10,94±0,88	9,26±1,07	9,430 ^a	<0,001 ^a
2. Širina vjednog rasporka lijevog oka (mm) (N=60)	10,91±0,88	9,28±1,06	9,192 ^a	<0,001 ^a
3. Širina vjednog rasporka lijevog oka (mm) (N=60)	10,93±0,90	9,28±1,06	9,203 ^a	<0,001 ^a
F^b	1,261 ^b	1,634 ^b		
p^b	0,291 ^b	0,156 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^a t-test df = 118 ^b ANOVA test za ponavljane uzorke df = 6

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između tri mjerenja širine vjeđnog rasporka desnog i lijevog oka (Tablica 4.) u daljnjoj statističkoj obradi, ovisno o potrebama analize, korištene su srednje vrijednosti (aritmetička sredina \pm SD) triju mjerenja širine vjeđnog rasporka desnog i lijevog oka (Tablica 5.) odnosno srednja vrijednost svih šest mjerenja širine vjeđnog rasporka oba oka (Tablica 6.).

Tablica 5. Srednje vrijednosti tri mjerenja širine vjeđnog rasporka desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t ^a	p ^a
Širina vjeđnog rasporka desnog oka (mm) (N=180)	10,93 \pm 0,88	9,27 \pm 1,08	15,944 ^a	<0,001 ^a
Širina vjeđnog rasporka lijevog oka (mm) (N=180)	10,93 \pm 0,88	9,27 \pm 1,06	16,154 ^a	<0,001 ^a
t ^b	-0,000 ^b	-0,000 ^b		
p ^b	1,000 ^b	1,000 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^a t-test df = 358 ^b t-test za povezane uzorke df = 179

Tablica 6. Srednja vrijednost svih šest mjerenja širine vjeđnog rasporka oba oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
Širina vjeđnog rasporka oba oka (mm) (N=360)	10,93 \pm 0,88	9,27 \pm 1,07	22,727	<0,001

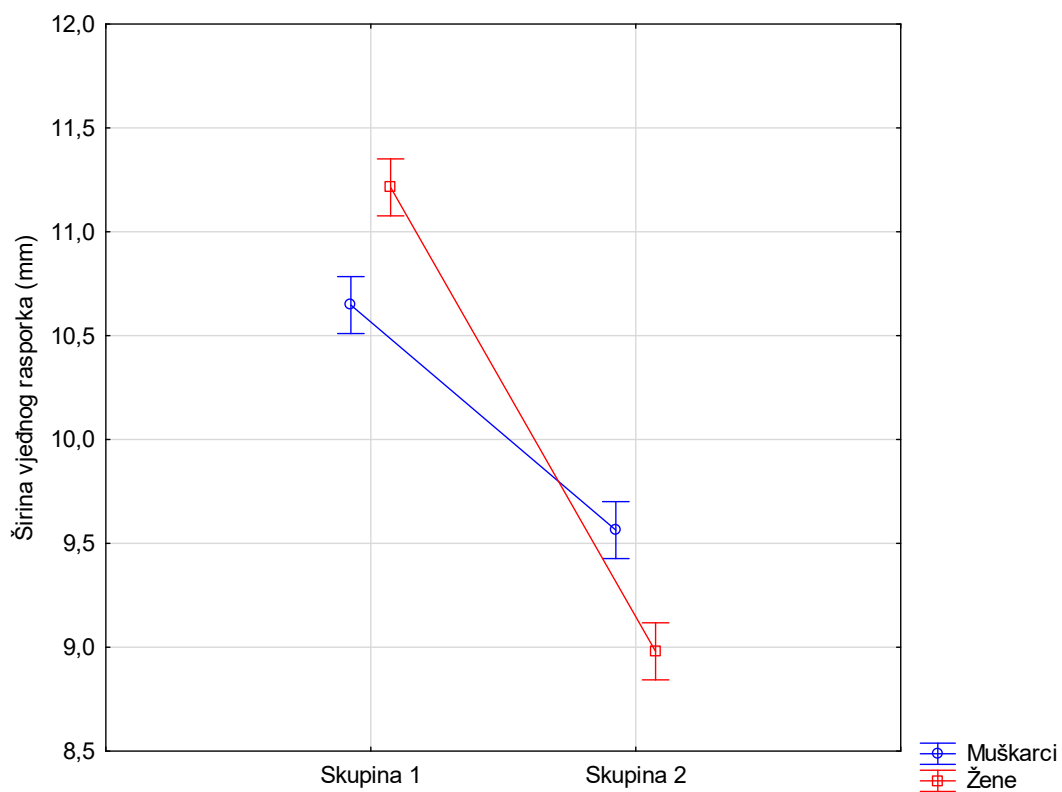
$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 718

No, podjelom ispitanika prema spolu, osim statistički značajne razlike između dobnih skupina, utvrđena je i statistički značajna razlika u širini vjeđnog rasporka unutar skupina na koju su najviše utjecale vrijednosti širine vjeđnog rasporka kod žena (Tablica 7., Slika 17.). Žene skupine 1 imale su najveću, a žene skupine 2 najmanju širinu vjeđnog rasporka, statistički značajno veću odnosno manju nego muškarci unutar iste dobne skupine ($p < 0,001$).

Tablica 7. Širina vjeđnog rasporka oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

Širina vjeđnog rasporka oba oka (mm)	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
Muškarci	10,65±0,59	9,56±0,81	14,519	<0,001
Žene	11,21±1,03	8,98±1,20	18,915	<0,001
t	-6,409	5,395		
p	<0,001	<0,001		

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 358



Slika 17. Usporedba širine vjeđnog rasporka oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

5.3. SUBJEKTIVNI SIMPTOMI I KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

5.3.1. SUBJEKTIVNI SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Dvije ispitivane dobne skupine nisu se razlikovale prema udjelu ispitanika sa i bez simptoma disfunkcije suznog filma ($p = 1,000$) (Tablica 8.). U obje skupine bio je identičan broj ispitanika koji su prema Scheinovom upitniku imali simptome disfunkcije suznog filma i onih koji ih nisu imali (30 vs. 30).

Tablica 8. Prisutnost/odsutnost simptoma disfunkcije suznog filma u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Chi	p
Simptomi disfunkcije suznog filma (da/ne)	30/30 (50/50)	30/30 (50/50)	0,000	1,000

N (%) Hi-kvadrat test df = 1

Srednja vrijednost ukupnog zbroja bodova u Scheinovom upitniku je u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma (N = 60) bila $6,73 \pm 3,69$. U ispitanika bez simptoma (N = 60) ista je bila 0,00, te su oni stoga izostavljeni iz ovog dijela analize. Stariji ispitanici sa simptomima disfunkcije suznog filma (skupina 2) imali su veći zbroj bodova u Scheinovom upitniku nego ispitanici mlađe dobi (skupina 1) ($7,10 \pm 3,92$ vs. $6,37 \pm 3,48$), no razlika među skupinama nije bila niti granično značajna ($p = 0,447$) (Tablica 9.).

Tablica 9. Zbroj bodova u Scheinovom upitniku u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=30)	Skupina 2 (N=30)	t	p
Zbroj bodova u Scheinovom upitniku	$6,37 \pm 3,48$	$7,10 \pm 3,92$	-0,766	0,447

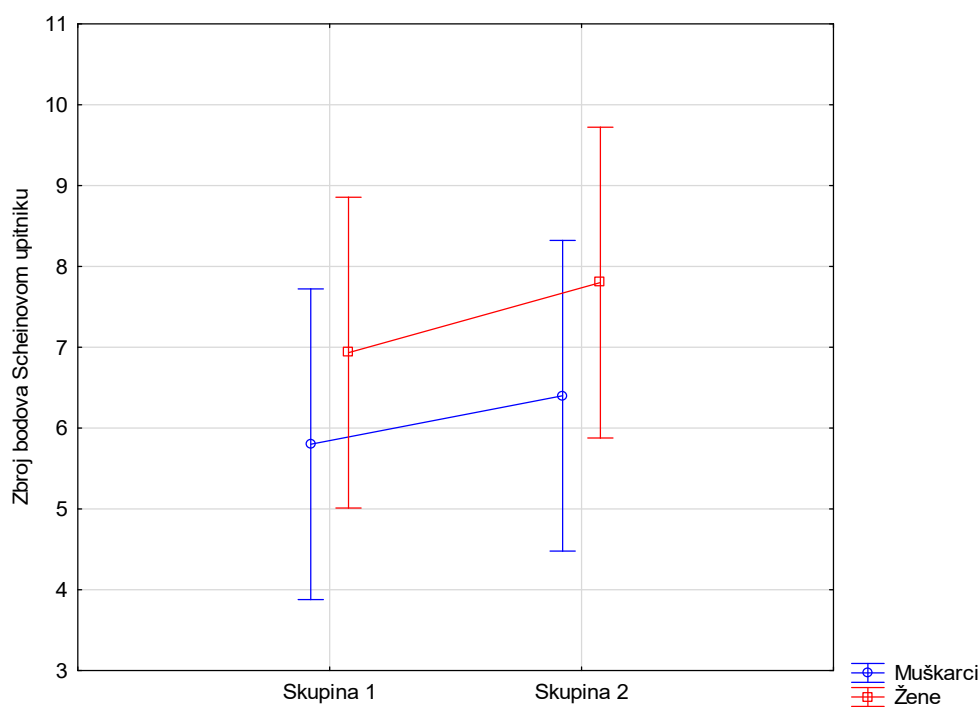
$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 58

Podjelom ispitanika prema spolu utvrđeno je da su i muškarci i žene starije životne dobi imali veći zbroj bodova u Scheinovom upitniku nego muškarci i žene mlađe dobi te također da su žene mlađe i žene starije životne dobi imale veći zbroj bodova nego muškarci unutar istih dobnih skupina, no razlike nisu bile značajne (Tablica 10., Slika 18.).

Tablica 10. Zbroj bodova u Scheinovom upitniku u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

Zbroj bodova u Scheinovom upitniku	Skupina 1 (N=30)	Skupina 2 (N=30)	t	p
Muškarci (N=15)	5,80±3,41	6,40±2,44	-0,554	0,584
Žene (N=15)	6,93±3,58	7,80±4,99	-0,547	0,589
t	-0,889	-0,976		
p	0,382	0,337		

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 28



Slika 18. Usporedba zbroja bodova u Scheinovom upitniku u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

5.3.2. KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

5.3.2.1. Hiperemija spojnice (engl. *Cornea and contact lens research unit; CCLRU*)

Nije bilo značajne razlike u hiperemiji spojnice desnog i lijevog oka među ispitivanim dobnim skupinama ($p > 0,05$) (Tablica 11.).

Tablica 11. Hiperemija spojnice desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z^a	p^a
CCRLU desnog oka (0-4)* (N=60)	0, 0-2	0, 0-2	-1,617 ^a	0,106 ^a
CCRLU lijevog oka (0-4)* (N=60)	0, 0-2	0, 0-3	-1,564 ^a	0,118 ^a
Z^b	1,826 ^b	1,681 ^b		
p^b	0,068 ^b	0,093 ^b		

Med, Min-Max ^a Mann-Whitney test ^b Wilcoxon test

* 0 - bez hiperemije, 1 - vrlo blaga hiperemija, 2 - blaga hiperemija, 3 - umjerena hiperemija, 4 - teška hiperemija

Budući da nije bilo niti značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između hiperemije spojnice desnog i lijevog oka (Tablica 11.) u daljnjoj analizi korištena je srednja vrijednost (medijan, raspon) hiperemije spojnice oba oka (Tablica 12.). Tek objedinjenom analizom rezultata oba oka utvrđena je statistički značajna razlika u hiperemiji spojnice među ispitivanim dobnim skupinama ($p = 0,025$).

Tablica 12. Hiperemija spojnice oba oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
CCRLU oba oka (0-4)* (N=120)	0, 0-2	0, 0-3	-2,249	0,025

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - bez hiperemije, 1 - vrlo blaga hiperemija, 2 - blaga hiperemija, 3 - umjerena hiperemija, 4 - teška hiperemija

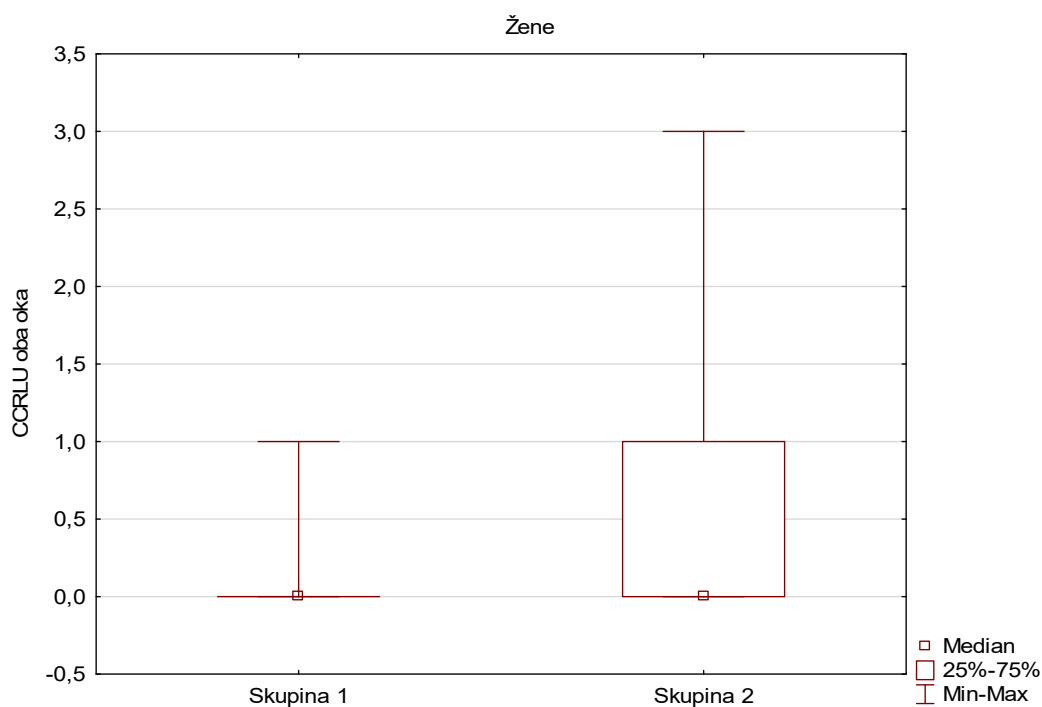
Podjelom ispitanika prema životnoj dobi i spolu utvrđena je statistički značajna razlika u hiperemiji spojnice oba oka između dobnih skupina kod žena ($p = 0,011$) (Slika 19.), dok razlika u istoj kod muškaraca nije bila značajna ($p = 0,544$) (Tablica 13.). Premda su žene skupine 1 imale slabije, a žene skupine 2 jače izraženu hiperemiju spojnice nego muškarci unutar iste dobnje skupine razlike nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$) (Tablica 13.).

Tablica 13. Hiperemija spojnice oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

CCRLU oba oka (0-4)*	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Muškarci	0, 0-2	0, 0-2	-0,606	0,544
Žene	0, 0-1	0, 0-3	-2,527	0,011
Z	0,984	-1,047		
p	0,325	0,295		

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - bez hiperemije, 1 - vrlo blaga hiperemija, 2 - blaga hiperemija, 3 - umjerena hiperemija, 4 - teška hiperemija



Slika 19. Usporedba hiperemije spojnice oba oka kod žena podijeljenih u skupine prema životnoj dobi

5.3.2.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma (engl. *Non-invasive tear break-up time*; NIBUT)

Provedena su tri mjerenja NIBUT-a desnog i tri mjerenja NIBUT-a lijevog oka. Rezultati pojedinih mjerenja prikazani su u Tablici 14. Vrijednosti NIBUT-a u ispitanika mlađe životne dobi (skupina 1) kretale su se u rasponu od 2 do 77 sekundi, a vrijednosti istog u ispitanika starije životne dobi (skupina 2) u rasponu od 2 do 45 sekundi. Iako su vrijednosti NIBUT-a u ispitanika skupine 2 u sva tri mjerenja na desnom i lijevom oku bile kraće nego u onih skupine 1, razlike između skupina nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$) niti je ANOVA testom za ponavljane uzorke utvrđena značajna razlika između tri mjerenja NIBUT-a desnog i lijevog oka unutar ispitivanih skupina ($p > 0,05$).

Tablica 14. Tri mjerenja NIBUT-a desnog i tri mjerenja NIBUT-a lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t ^a	p ^a
1. NIBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	23,30±19,26	18,95±12,92	1,453 ^a	0,149 ^a
2. NIBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	23,92±20,34	19,37±13,11	1,456 ^a	0,148 ^a
3. NIBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	23,88±20,04	19,52±13,29	1,406 ^a	0,162 ^a
1. NIBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	23,28±19,72	19,17±12,97	1,351 ^a	0,179 ^a
2. NIBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	24,05±20,63	19,42±13,22	1,465 ^a	0,146 ^a
3. NIBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	24,47±21,03	19,73±13,45	1,469 ^a	0,144 ^a
F^b	0,889 ^b	0,076 ^b		
p^b	0,509 ^b	0,998 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^a t-test df = 118 ^b ANOVA test za ponavljane uzorke df = 6

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između tri mjerenja NIBUT-a desnog i lijevog oka (Tablica 14.) u daljnjoj statističkoj analizi, ovisno o potrebama analize, korištene su srednje vrijednosti (aritmetička sredine \pm standardna devijacija) triju mjerenja NIBUT-a desnog i lijevog oka (Tablica 15.) odnosno srednja vrijednost svih šest mjerenja NIBUT-a oba oka (Tablica 16.).

Tablica 15. Srednje vrijednosti tri mjerenja NIBUT-a desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t ^a	p ^a
NIBUT desnog oka (sekunde) (N=180)	23,70 \pm 19,78	19,28 \pm 13,04	2,504 ^a	0,013^a
NIBUT lijevog oka (sekunde) (N=180)	23,93 \pm 19,72	19,44 \pm 13,14	2,489 ^a	0,013^a
t^b	-1,008 ^b	-1,215 ^b		
p^b	0,315 ^b	0,226 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^a t-test df = 358 ^b t-test za povezane uzorke df = 179

Tablica 16. Srednja vrijednost svih šest mjerenja NIBUT-a oba oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
NIBUT oba oka (sekunde) (N=360)	23,82 \pm 20,04	19,35 \pm 13,07	3,535	<0,001

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 718

Premda je u Tablici 14. uočljivo da su srednje vrijednosti NIBUT-a desnog i lijevog oka bile kraće u ispitanika starije životne dobi (skupina 2) tek objedinjenom analizom izmjerenih vrijednosti NIBUT-a desnog i lijevog oka te istih oba oka utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima NIBUT-a među dobnim skupinama (Tablice 15. i 16.).

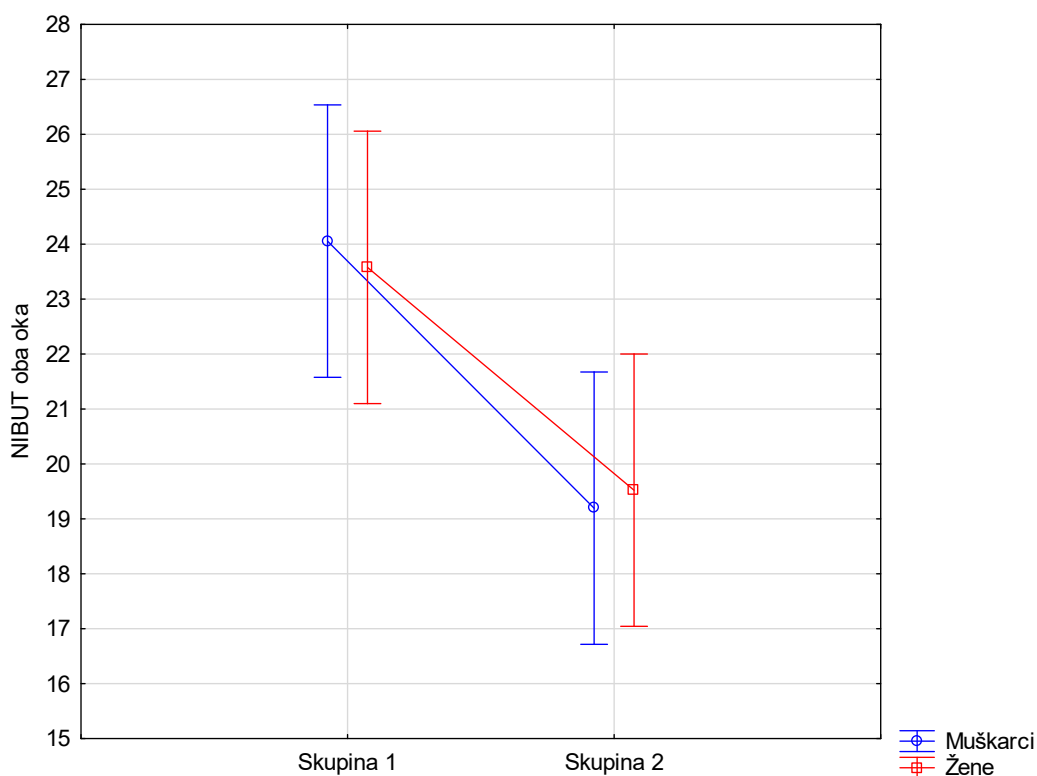
Podjelom ispitanika prema životnoj dobi i spolu, utvrđena je samo statistički značajna razlika u vrijednostima NIBUT-a kod oba spola između dobnih skupina (muškarci: p = 0,008; žene: p = 0,022) dok značajnije razlike između spolova unutar dobnih skupina

nije bilo (Tablica 17., Slika 20.). Muškarci skupine 1 imali su najduže, a muškarci skupine 2 najkraće vrijednosti NIBUT-a, no razlike prema onima kod žena nisu bile značajne ($p > 0,05$).

Tablica 17. NIBUT oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

NIBUT oba oka (sekunde)	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
Muškarci	24,06±19,79	19,19±14,15	2,679	0,008
Žene	23,58±20,34	19,52±11,93	2,308	0,022
t	0,226	-0,238		
p	0,821	0,812		

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 358



Slika 20. Usporedba NIBUT-a oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

5.3.2.3. Ekspresija Meibomovih žlijezda

Nalaz ekspresije Meibomovih žlijezda na lijevom oku kod ispitanika podijeljenih u dobne skupine prikazan je u Tablici 18. Nije bilo značajne razlike u količini sekreta među skupinama, no izgled sekreta je kod ispitanika starije dobi češće bio promijenjen, zamućen ili pjenušav za razliku od ispitanika mlađe dobi kod kojih je on najčešće bio bistar (Slika 21.).

Tablica 18. Nalaz ekspresije Meibomovih žlijezda na lijevom oku u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

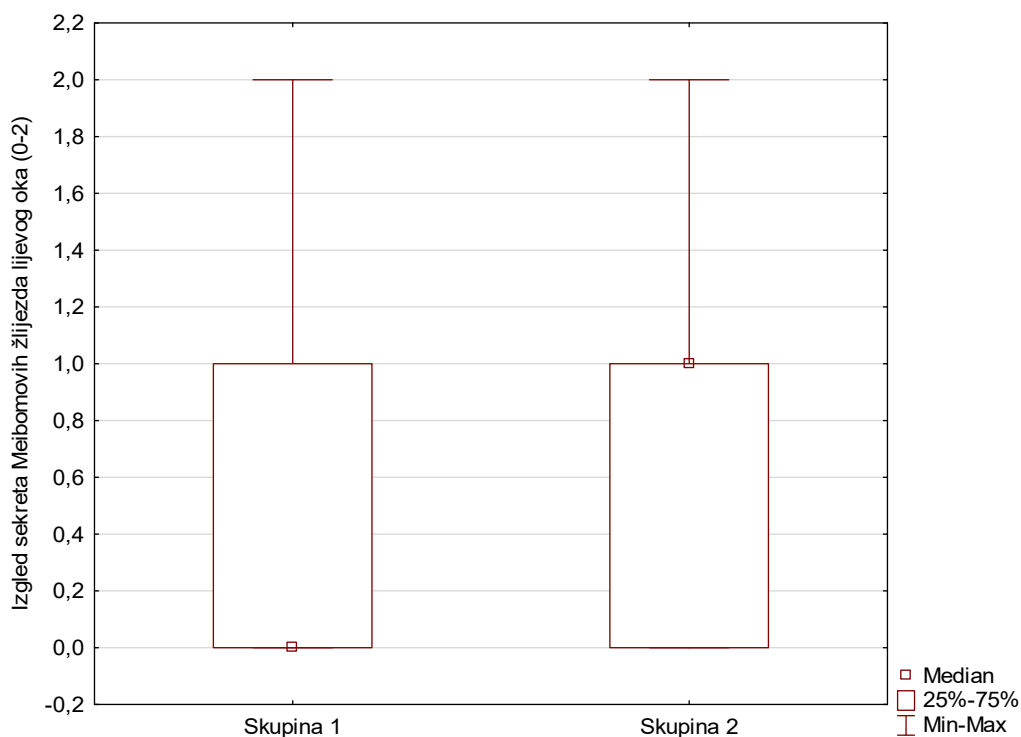
	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Količina sekreta (0-3)*	0, 0-3	1, 0-2	-1,847	0,065
Izgled sekreta (0-3)**	0, 0-2	1, 0-2	-2,968	0,003

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* Skala za procjenu količine sekreta: 0 - sve žlijezde secerniraju na pritisak, 1 - 3-4 žlijezde secerniraju,

2 - 1-2 žlijezde secerniraju, 3 - ekspresijom se ne dobiva vidljiva sekrecija

** 0 (A) - sekret bistar, 1 (B) - sekret zamućen, 2 (C) – sekret pjenušav, 3 (D)– staza, sekret poput paste



Slika 21. Usporedba izgleda sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi.

Podjelom ispitanika prema životnoj dobi i spolu nije utvrđena statistički značajna razlika u količini sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka između dobnih i spolnih skupina (Tablica 19.). Premda su žene starije dobi imale manju količinu sekreta nego žene mlađe dobi, te žene starije i mlađe dobi imale manju količinu sekreta nego muškarci unutar iste dobne skupine, razlike nisu bile statistički značajne ($p < 0,05$).

Tablica 19. Količina sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

Količina sekreta (0-3)*	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Muškarci	0, 0-2	0, 0-2	1,678	0,093
Žene	0, 0-3	1, 0-2	-1,567	0,117
Z	-1,368	-1,035		
p	0,171	0,301		

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* Skala za procjenu količine sekreta: 0 - sve žlijezde secerniraju na pritisak, 1 - 3-4 žlijezde secerniraju, 2 - 1-2 žlijezde secerniraju, 3 - ekspresijom se ne dobiva vidljiva sekrecija

Žene starije životne dobi imale su statistički značajno češće promijenjeni izgled sekreta Meibomovih žlijezda nego žene mlađe dobi ($p = 0,021$) i muškarci starije životne dobi ($p = 0,031$) (Tablica 20.).

Tablica 20. Izgled sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

Izgled sekreta (0-3)*	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Muškarci	0, 0-1	0, 0-2	-1,944	0,052
Žene	0, 0-2	1, 0-2	-2,313	0,021
Z	-1,899	-2,151		
p	0,057	0,031		

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 (A) - sekret bistar, 1 (B) - sekret zamućen, 2 (C) - sekret pjenušav, 3 (D) - staza, sekret poput paste

5.3.2.4. Invazivni test pucanja suznog filma (engl. *Tear break-up time*; TBUT)

Provedena su tri mjerenja TBUT-a desnog i tri mjerenja TBUT-a lijevog oka. Rezultati pojedinih mjerenja prikazani su u Tablici 21. Vrijednosti TBUT-a u ispitanika mlađe životne dobi (skupina 1) kretale su se u rasponu od 2 do 20 sekundi, a vrijednosti istog u ispitanika starije životne dobi (skupina 2) u rasponu od 2 do 17 sekundi. Iako su vrijednosti TBUT-a u ispitanika skupine 2 u sva tri mjerenja na desnom i lijevom oku bile kraće nego u onih skupine 1, samo su razlike u 2. i 3. mjerenju TBUT-a desnog oka bile statistički značajne ($p = 0,017$; $p = 0,031$). ANOVA testom za ponavljane uzorke nije utvrđena značajna razlika između tri mjerenja TBUT-a desnog i lijevog oka unutar ispitivanih skupina ($p > 0,05$).

Tablica 21. Tri mjerenja TBUT-a desnog i tri mjerenja TBUT-a lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t ^a	p ^a
1. TBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	9,78±4,92	8,43±3,63	1,762 ^a	0,072 ^a
2. TBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	9,93±4,81	8,17±3,57	2,415 ^a	0,017^a
3. TBUT desnog oka (sekunde) (N=60)	9,88±4,81	8,28±3,65	2,179 ^a	0,031^a
1. TBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	9,95±4,95	8,58±3,29	1,779 ^a	0,078 ^a
2. TBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	9,78±4,75	8,33±3,21	1,959 ^a	0,052 ^a
3. TBUT lijevog oka (sekunde) (N=60)	9,85±4,87	8,62±3,26	1,629 ^a	0,106 ^a
F^b	0,247 ^b	0,823 ^b		
p^b	0,958 ^b	0,557 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^a t-test df = 118 ^b ANOVA test za ponavljane uzorke df = 6

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između tri mjerenja TBUT-a desnog i lijevog oka (Tablica 21.) u daljnjoj statističkoj obradi, ovisno o potrebama analize, korištene su srednje vrijednosti (aritmetička sredine \pm

standardna devijacija) triju mjerenja TBUT-a desnog i lijevog oka (Tablica 22.) odnosno srednja vrijednost svih šest mjerenja TBUT-a oba oka (Tablica 23.).

Tablica 22. Srednje vrijednosti tri mjerenja TBUT-a desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t^a	p^a
TBUT desnog oka (sekunde) (N=180)	9,87±4,82	8,36±3,59	3,803 ^a	<0,001^a
TBUT lijevog oka (sekunde) (N=180)	9,86±4,83	8,51±3,24	3,113 ^a	0,002^a
t^b	0,079 ^b	-1,417 ^b		
p^b	0,937 ^b	0,123 ^b		

$\bar{x} \pm SD$ ^at-test df = 358 ^bt-test za povezane uzorke df = 179

Tablica 23. Srednja vrijednost svih šest mjerenja TBUT-a oba oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
TBUT oba oka (sekunde) (N=360)	9,87±4,82	8,34±3,42	4,903	<0,001

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 718

Premda je u Tablici 21. uočljivo da su srednje vrijednosti TBUT-a desnog i lijevog oka bile kraće u ispitanika starije životne dobi (skupina 2) tek objedinjenom analizom izmjerenih vrijednosti TBUT-a desnog i lijevog oka te istih oba oka utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima TBUT-a među dobnim skupinama (Tablice 22. i 23.).

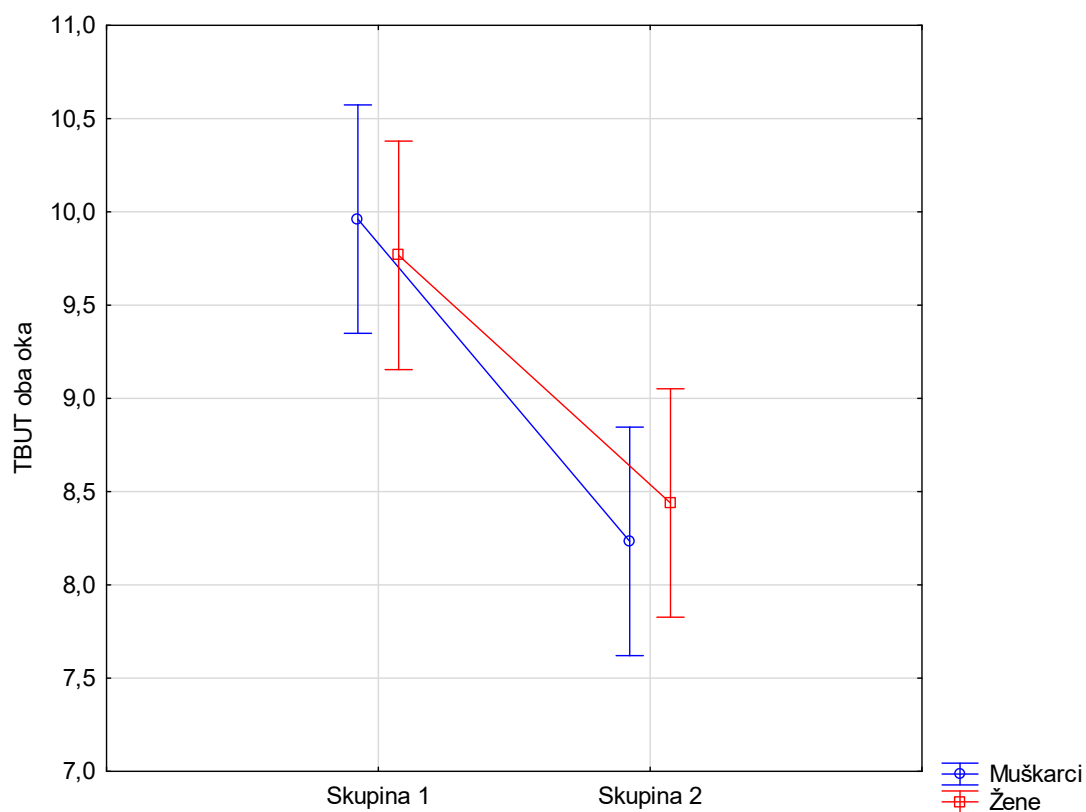
Podjelom ispitanika prema životnoj dobi i spolu, utvrđena je samo statistički značajna razlika u vrijednostima TBUT-a kod oba spola između dobnih skupina (muškarci: $p < 0,001$; žene: $p = 0,001$) no značajnije razlike između spolova unutar dobnih skupina nije bilo (Tablica 24., Slika 22.). Muškarci skupine 1 imali su najduže, a muškarci

skupine 2 najkraće vrijednosti TBUT-a, no razlike prema onima kod žena nisu bile značajne ($p > 0,05$).

Tablica 24. TBUT oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

TBUT oba oka (sekunde)	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	t	p
Muškarci	9,96±5,08	8,23±3,77	3,663	<0,001
Žene	9,77±4,56	8,44±3,04	3,252	0,001
t	0,382	-0,569		
p	0,702	0,569		

$\bar{x} \pm SD$ t-test df = 358



Slika 22. Usporedba TBUT-a oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

5.3.2.5. Bojanje rožnice fluoresceinom

Pozitivan nalaz bojanja rožnice desnog i lijevog oka fluoresceinom bio je češći u ispitanika skupine 2 nego u onih skupine 1 no razlika nije bila statistički značajna, a nije bilo niti značajne razlike u nalazu bojanja rožnice unutar ispitivanih dobnih skupina (Tablica 25.).

Tablica 25. Bojanje rožnice desnog i lijevog oka fluoresceinom u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z^a	p^a
Bojanje rožnice desnog oka fluoresceinom (0-15)* (N=60)	0, 0-6	0, 0-10	-0,677 ^a	0,498 ^a
Bojanje rožnice lijevog oka fluoresceinom (0-15)* (N=60)	0, 0-7	0, 0-11	-0,748 ^a	0,455 ^a
Z^b	0,235 ^b	0,604 ^b		
p^b	0,814 ^b	0,546 ^b		

Med, Min-Max ^a Mann-Whitney test ^b Wilcoxon test 5

* 0 - 15: NEI skala bojanja rožnice fluoresceinom

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između bojanja rožnice desnog i lijevog oka fluoresceinom (Tablica 25.) u daljnjoj statističkoj analizi korištena je srednja vrijednost (medijan, raspon) bojanja rožnice oba oka fluoresceinom (Tablica 26.)

Tablica 26. Bojanje rožnice oba oka fluoresceinom u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Bojanje rožnice oba oka fluoresceinom (0-15)* (N=120)	0, 0-7	0, 0-11	-1,021	0,307

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - 15: NEI skala bojanja rožnice fluoresceinom

Podjelom ispitanika prema životnoj dobi i spolu nije bilo značajne razlike u bojanju rožnice oba oka fluoresceinom ni između niti unutar dobnih i spolnih skupina (Tablica 27.).

Tablica 27. Bojenje rožnice oba oka fluoresceinom u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

Bojanje rožnice oba oka fluoresceinom (0-15)*	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Muškarci	0, 0-5	0, 0-8	-0,386	0,699
Žene	0, 0-7	0, 0-11	-1,071	0,284
Z	-0,092	-0,475		
p	0,927	0,635		

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - 15: NEI skala bojanja rožnice fluoresceinom

5.3.2.6. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (engl. *Lid-parallel conjunctival folds*; LIPCOF)

Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe desnog i lijevog oka bili su izraženiji u ispitanika skupine 2 nego u onih skupine 1 no razlika nije bila statistički značajna, a nije bilo niti značajne razlike u naborima spojnice unutar ispitivanih dobnih skupina (Tablica 28.).

Tablica 28. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe desnog i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z ^a	p ^a
LIPCOF desnog oka (0-3)* (N=60)	0,5, 0-2	1, 0-3	-0,672 ^a	0,502 ^a
LIPCOF lijevog oka (0-3)* (N=60)	0,5, 0-3	1, 0-3	-0,863 ^a	0,388 ^a
Z^b	1,342 ^b	1,826 ^b		
p^b	0,179 ^b	0,068 ^b		

Med, Min-Max ^a Mann-Whitney test ^b Wilcoxon test

* 0 - nema nabora, 1 - jedan paralelni nabor, 2 - dva paralelna nabora, 3 - više od dva paralelna nabora

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između nabora spojnice paralelnih s rubom vjeđe desnog i lijevog oka (Tablica 28.) u daljnjoj statističkoj analizi korištena je srednja vrijednost (medijan, raspon) nabora spojnice paralelnih s rubom vjeđe oba oka (Tablica 29.).

Tablica 29. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe oba oka u ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema životnoj dobi.

	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
LIPCOF oba oka (0-3)* (N=120)	0,5, 0-3	1, 0-3	-1,092	0,274

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - nema nabora, 1 - jedan paralelni nabor, 2 - dva paralelna nabora, 3 - više od dva paralelna nabora

Muškarci mlađe životne dobi (skupina 1) imali su najmanji broj nabora spojnice paralelnih s rubom vjeđe oba oka no utvrđene razlike između i unutar spolnih i dobnih skupina nisu bile značajne ($p > 0,05$) (Tablica 30.).

Tablica 30. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

LIPCOF oba oka (0-3)*	Skupina 1 (N=60)	Skupina 2 (N=60)	Z	p
Muškarci	0, 0-2	1, 0-3	-0,722	0,470
Žene	1, 0-3	1, 0-3	-0,832	0,405
Z	-0,289	-0,407		
p	0,773	0,684		

Med, Min-Max Mann-Whitney test

* 0 - nema nabora, 1 - jedan paralelni nabor, 2 - dva paralelna nabora, 3 - više od dva paralelna nabora

5.4. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA I KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

U istraživanju je bilo 60 (50%) ispitanika koji su imali simptome disfunkcije suznog filma i 60 (50%) ispitanika koji ih nisu imali. Tablica 31. prikazuje demografska obilježja i širinu vjeđnog rasporka oba oka u ispitanika podijeljenih u skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma. Ispitanici sa i bez simptoma disfunkcije suznog filma nisu se značajno razlikovali prema životnoj dobi, spolu i širini vjeđnog rasporka ($p > 0,05$).

Tablica 31. Demografska obilježja i širina vjeđnog rasporka u ispitanika podijeljenih u skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma.

	Ispitanici sa simptomima disfunkcije suznog filma (N=60)	Ispitanici bez simptoma disfunkcije suznog filma (N=60)	t ^a Chi ^b	p
Životna dob (god.)*	47,68±17,95	45,33±18,87	-0,699 ^a	0,486 ^a
Spol (m/ž)**	30/30 (50/50)	30/30 (50/50)	0,000 ^b	1,000 ^b
Širina vjeđnog rasporka oba oka (mm)*	10,23±1,37	9,98±1,24	-1,051 ^a	0,296 ^a

* $\bar{x} \pm SD$ ** N (%) ^a t-test df = 118 ^b Hi-kvadrat test df = 1

5.4.1. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

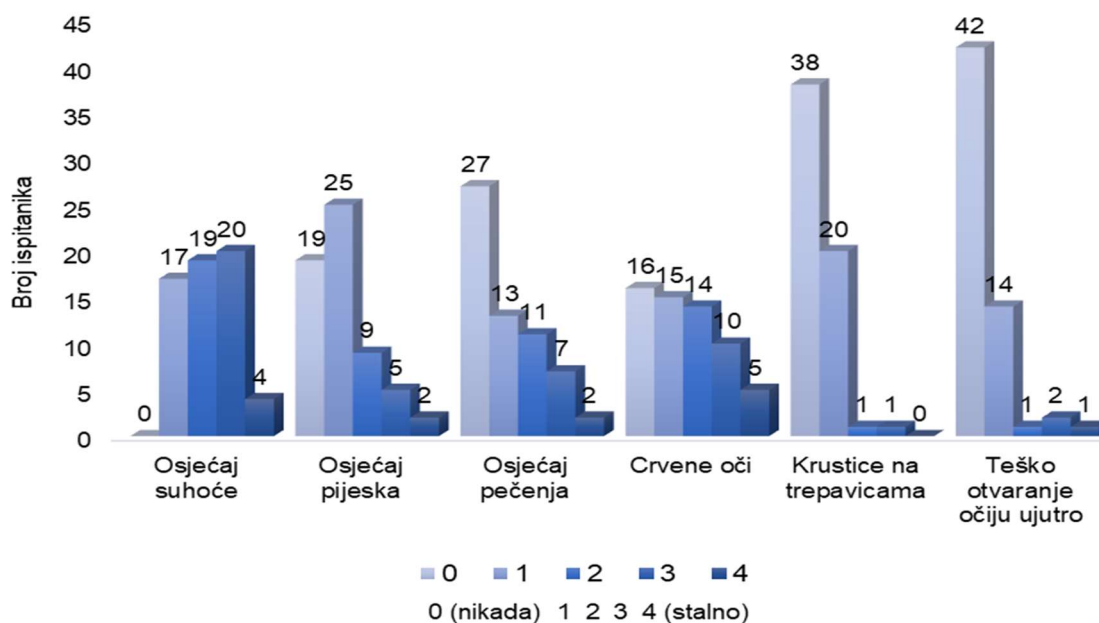
Ovaj dio rezultata odnosi se samo na ispitanike koji su imali simptome disfunkcije suznog filma. Ispitanici koji ih nisu imali izuzeti su iz ovog dijela statističke analize. Srednja vrijednost ukupnog zbroja bodova u Scheinovom upitniku je u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma iznosila $6,73 \pm 3,69$ (Tablica 32.).

Najčešći simptomi disfunkcije suznog filma bili su osjećaj suhoće i pijeska u očima, crvenilo očiju te osjećaj pečenja u očima (Tablica 32., Slika 23.). Krustice na trepavicama i teško otvaranje očiju ujutro bili su rjeđe prisutni simptomi.

Tablica 32. Ukupan zbroj bodova u Scheinovom upitniku i karakteristični simptomi u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

	Ispitanici sa simptomima disfunkcije suznog filma (N=60)
Ukupan zbroj bodova u Scheinovom upitniku*	6,73±3,69
Osjećaj suhoće u očima (0-4)**	2, 1-4
Osjećaj pijeska u očima (0-4)**	1, 0-4
Osjećaj pečenja u očima (0-4)**	1, 0-4
Crvene oči (0-4)**	1, 0-4
Krustice na trepavicama (0-4)**	0, 0-3
Teško otvaranje očiju ujutro (0-4)**	0, 0-4

* $\bar{x} \pm SD$ ** Med, Min-Max



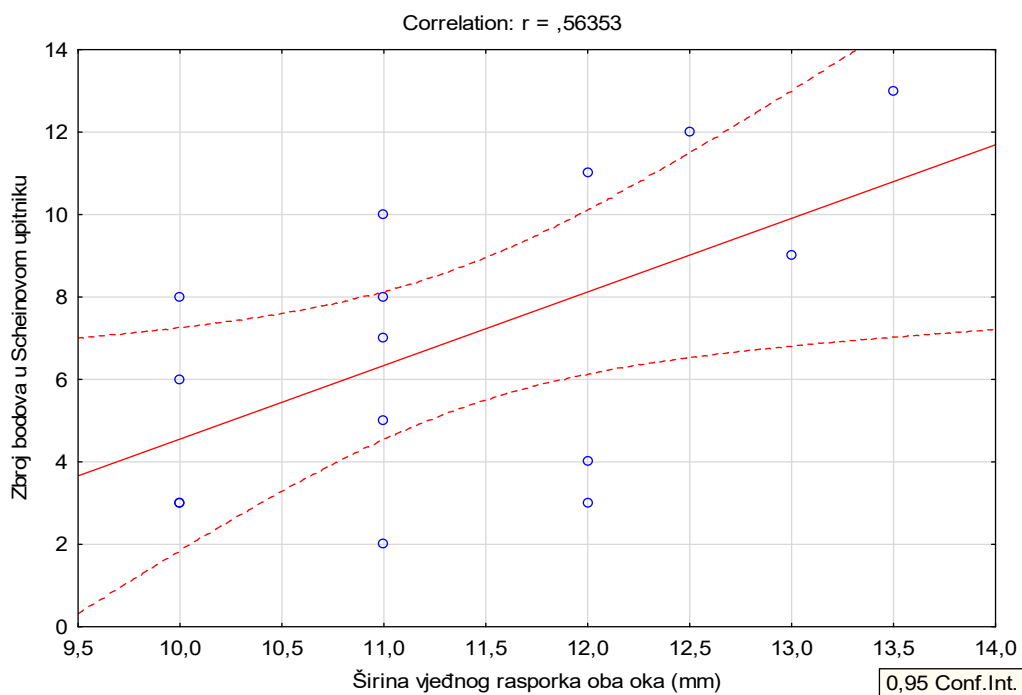
Slika 23. Zastupljenost karakterističnih simptoma u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma

Širina vjeđnog rasporka je u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma bila statistički značajno pozitivno povezana sa zbrojem bodova u Scheinovom upitniku, osjećajem suhoće u očima i pojavom krustica na trepavicama (Tablica 33., Slike 24. - 26.), a u starijih žena značajno negativno s osjećajem teškog otvaranja očiju ujutro (Tablica 34., Slika 27.).

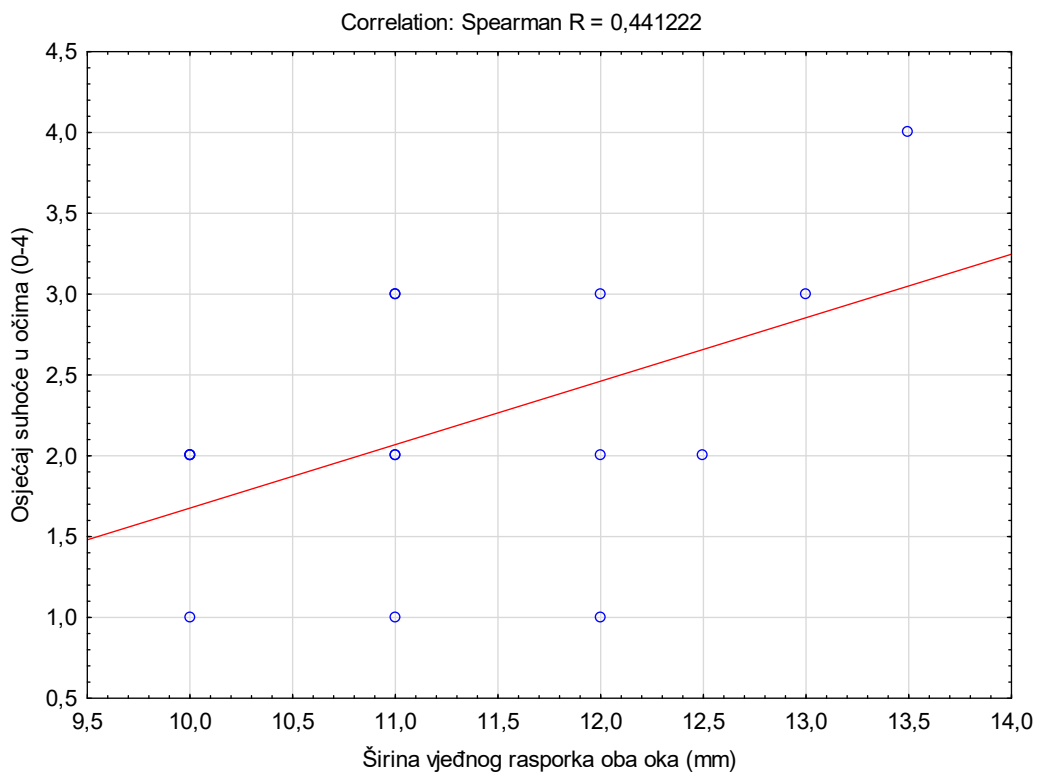
Tablica 33. Povezanost širine vjeđnog rasporka sa subjektivnim simptomima u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma
Ukupan zbroj bodova u Scheinovom upitniku	r^a p	0,564 0,029
Osjećaj suhoće u očima	Spearman R^b p	0,441 0,049
Krustice na trepavicama	Spearman R^b p	0,474 0,034

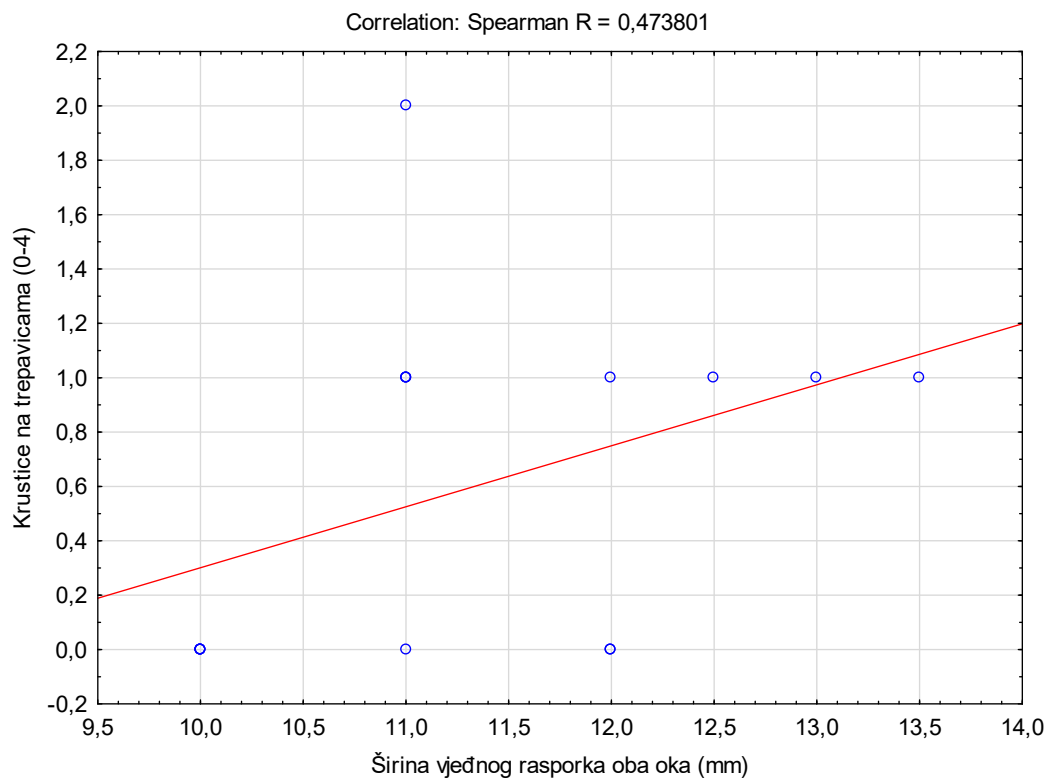
^a Pearsonov test korelacije ^b Spearmanov test rang-korelacije



Slika 24. Povezanost širine vjeđnog rasporka i ukupnog zbroja bodova u Scheinovom upitniku u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.



Slika 25. Povezanost širine vječnog rasporka i osjećaja suhoće u očima u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

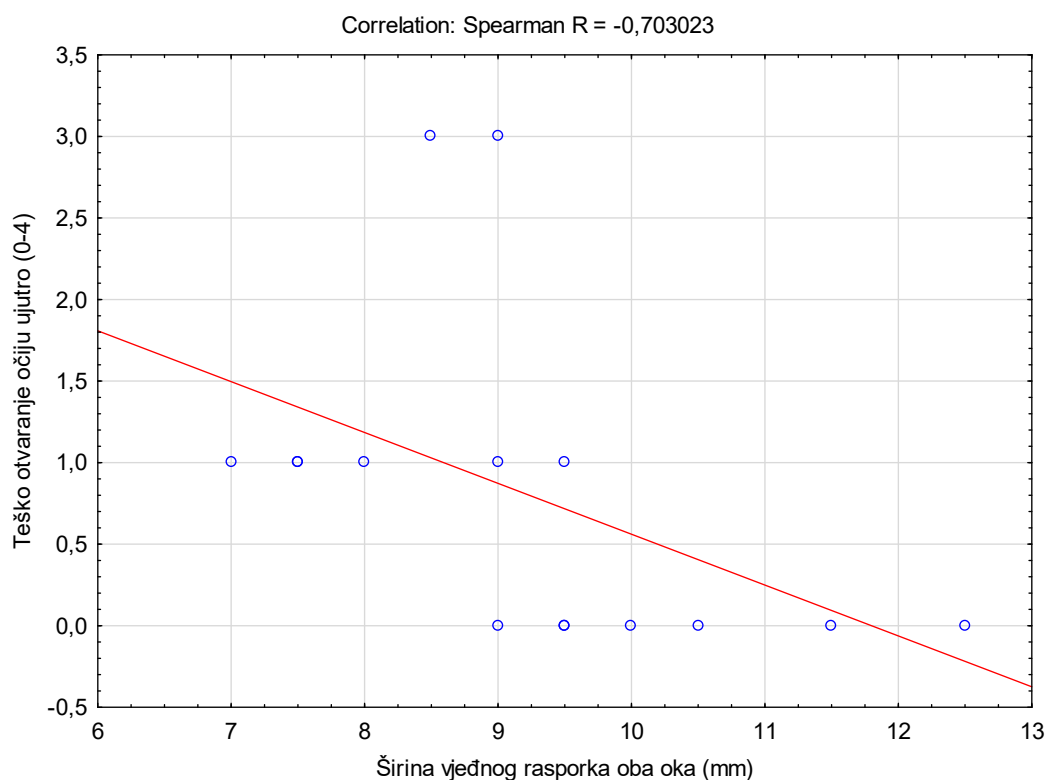


Slika 26. Povezanost širine vječnog rasporka i pojave krustica na trepavicama u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma

Tablica 34. Povezanost širine vjeđnog rasporka sa subjektivnim simptomima u starijih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u starijih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma
Teško otvaranje očiju ujutro	Spearman R p	-0,703 0,003

Spearmanov test rang-korelacije



Slika 27. Povezanost širine vjeđnog rasporka i teškog otvaranja očiju ujutro u starijih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

Povezanost širine vjeđnog rasporka s istim simptomima disfunkcije suznog filma kod muškaraca te drugim simptomima u ostalim dobnim i spolnim skupinama nije bila niti granično značajna te stoga ti rezultati nisu prikazani.

5.4.2. POVEZANOST ŠIRINE VJEDNOG RASPORKA S KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Tablica 35. prikazuje kliničke znakove disfunkcije suznog filma u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma.

Ispitanici sa simptomima disfunkcije suznog filma imali su statistički značajno izraženiju hiperemiju spojnice, kraći NIBUT, manju količinu i promijenjeni izgled sekreta Meibomovih žlijezda, kraći TBUT, izraženije bojanje rožnice fluoresceinom te veći broj nabora spojnice paralelnih s rubom vjeđe oba oka nego ispitanici koji nisu imali simptome disfunkcije suznog filma ($p < 0,001$).

Tablica 35. Klinički znakovi disfunkcije suznog filma u ispitanika podijeljenih u skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma.

	Ispitanici sa simptomima disfunkcije suznog filma (N=60)	Ispitanici bez simptoma disfunkcije suznog filma (N=60)	Z ^a t ^b	p
CCRLU oba oka (0-4)*	0, 0-2	0, 0-1	-3,501 ^a	<0,001 ^a
NIBUT oba oka**	7,18±3,01	35,07±11,96	17,506 ^b	<0,001 ^b
Količina sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka (0-3)*	1, 0-3	0, 0-1	-4,438 ^a	<0,001 ^a
Izgled sekreta Meibomovih žlijezda lijevog oka (0-3)*	1, 0-2	0, 0-2	-3,803 ^a	<0,001 ^a
TBUT oba oka**	5,83±2,23	12,70±2,72	15,112 ^b	<0,001 ^b
Bojanje rožnice fluoresceinom oba oka (0-15)*	2, 0-10	0, 0-2	-5,873 ^a	<0,001 ^a
LIPCOF oba oka*	1, 0-3	0, 0-2	-6,742 ^a	<0,001 ^a

* Med, Min-Max ** $\bar{x} \pm SD$ ^a Mann-Whitney test ^b t-test df = 118

5.4.2.1. Povezanost širine vjeđnog rasporka s hiperemijom spojnice

Širina vjeđnog rasporka je u svih ispitanika uključenih u istraživanje bila statistički značajno negativno povezana s hiperemijom spojnice ($R = -0,148$, $p = 0,022$). Podjelom ispitanika prema dobi i spolu statistički značajna negativna povezanost utvrđena je samo kod mlađih žena ($p = 0,017$) dok ostale povezanosti nisu bile niti granične značajne (Tablica 36.).

Tablica 36. Povezanost širine vjeđnog rasporka s hiperemijom spojnice u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka oba oka	
		Skupina 1	Skupina 2
CCRLU oba oka	Spearman R p	-0,127 0,166	-0,049 0,589
Muškarci	Spearman R p	0,126 0,339	0,234 0,859
Žene	Spearman R p	-0,307 0,017	-0,076 0,564

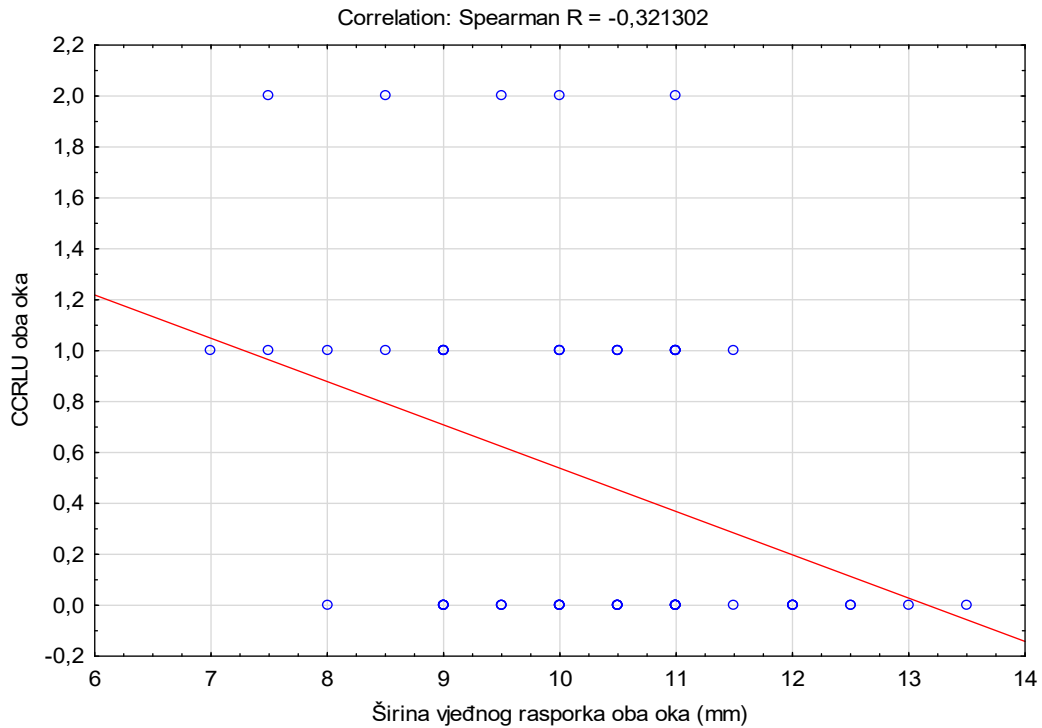
Spearmanov test rang-korelacije

Nakon podjele ispitanika prema prisustvu simptoma disfunkcije suznog filma, u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma širina vjeđnog rasporka bila je statistički značajno negativno povezana s hiperemijom spojnice (Tablica 37., Slika 28.). Povezanost u ispitanika bez simptoma nije bila niti granično značajna pa ti rezultati nisu prikazani.

Tablica 37. Povezanost širine vjeđnog rasporka s hiperemijom spojnice u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma
CCRLU oba oka	Spearman R p	-0,321 0,012

Spearmanov test rang-korelacije



Slika 28. Povezanost širine vjeđnog rasporka i hiperemije spojnice u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

5.4.2.2. Povezanost širine vjeđnog rasporka s neinvazivnim testom pucanja suznog filma

U svih ispitanika uključenih u istraživanje širina vjeđnog rasporka nije bila povezana s NIBUT-om ($r = -0,024$, $p = 0,517$). Tek podjelom ispitanika u skupine prema životnoj dobi i spolu utvrđena je statistički značajna slaba negativna povezanost širine vjeđnog rasporka i NIBUT-a u ispitanika mlađe i starije životne dobi, poglavito u mlađih muškaraca i žena (muškarci: $p = 0,022$; žene: $p = 0,007$) (Tablica 38).

Tablica 38. Povezanost širine vjeđnog rasporka s neinvazivnim testom pucanja suznog filma u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka oba oka	
		Skupina 1	Skupina 2
NIBUT oba oka	r	-0,177	-0,117
	p	<0,001	0,026
Muškarci	r	-0,170	-0,129
	p	0,022	0,086
Žene	r	-0,199	-0,118
	p	0,007	0,113

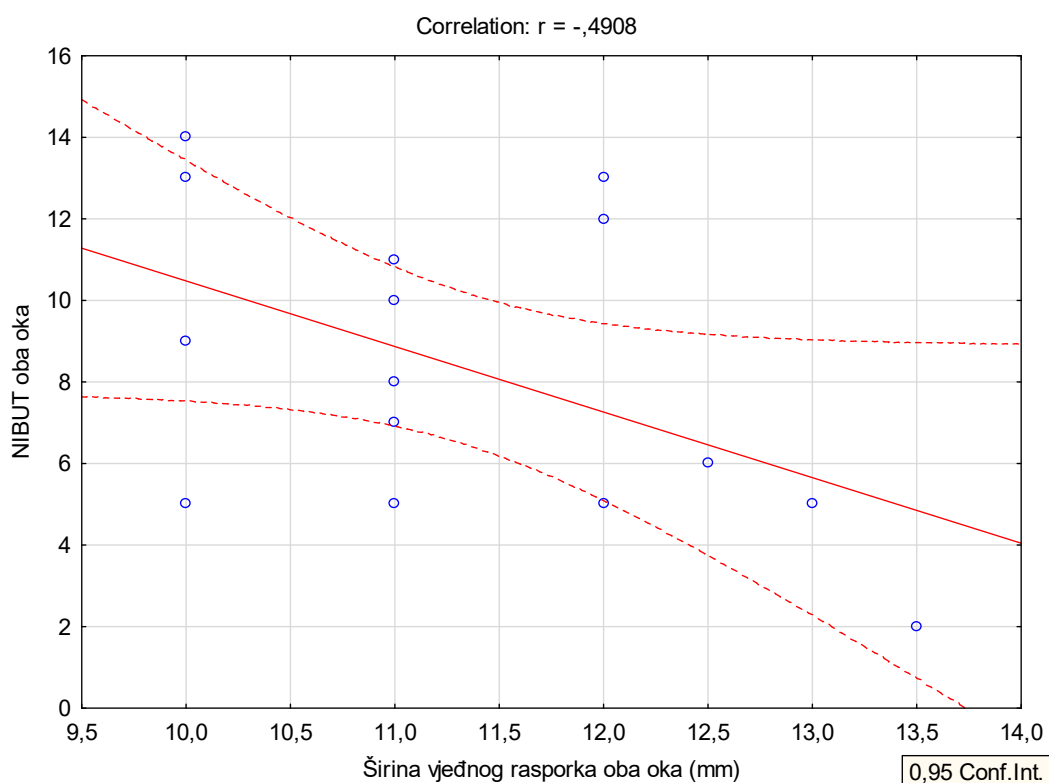
Pearsonov test korelacije

Podjelom ispitanika prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma, širina vjeđnog rasporka samo je u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma bila statistički značajno negativno povezana s NIBUT-om (Tablica 39., Slika 29.).

Tablica 39. Povezanost širine vjeđnog rasporka s NIBUT-om u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma
NIBUT oba oka	r p	-0,491 0,043

Pearsonov test korelacije



Slika 29. Povezanost širine vjeđnog rasporka i NIBUT-a u mlađih žena sa simptomima disfunkcije suznog filma.

5.4.2.3. Povezanost širine vjeđnog rasporka s nalazom ekspresije Meibomovih žlijezda

U svih ispitanika uključenih u istraživanje širina vjeđnog rasporka nije bila povezana s količinom sekreta Meibonovih žlijezda ($R = -0,013$, $p = 0,889$). Tek podjelom ispitanika u skupine prema životnoj dobi utvrđena je statistički značajna negativna korelacija u ispitanika mlađe životne dobi ($R = 0,281$, $p = 0,029$) (Tablica 40.).

Tablica 40. Povezanost širine vjeđnog rasporka s količinom sekreta Meibomovih žlijezda u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu..

		Širina vjeđnog rasporka lijevog oka	
		Skupina 1	Skupina 2
Količina sekreta	Spearman R p	-0,281 0,029	-0,009 0,944
Muškarci	Spearman R p	0,323 0,082	0,169 0,371
Žene	Spearman R p	0,184 0,331	-0,039 0,838

Spearmanov test rang-korelacije

Izgled sekreta Meibomovih žlijezda bio je statistički značajno negativno povezan sa širinom vjeđnog rasporka u svih ispitanika uključenih u istraživanje ($R = -0,264$, $p = 0,004$) i u onih starije životne dobi ($R = -0,259$, $p = 0,046$) (Tablica 41.).

Tablica 41. Povezanost širine vjeđnog rasporka s izgledom sekreta Meibomovih žlijezda u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka lijevog oka	
		Skupina 1	Skupina 2
Izgled sekreta	Spearman R p	0,089 0,495	-0,259 0,046
Muškarci	Spearman R p	0,095 0,616	-0,143 0,451
Žene	Spearman R p	0,167 0,930	-0,168 0,374

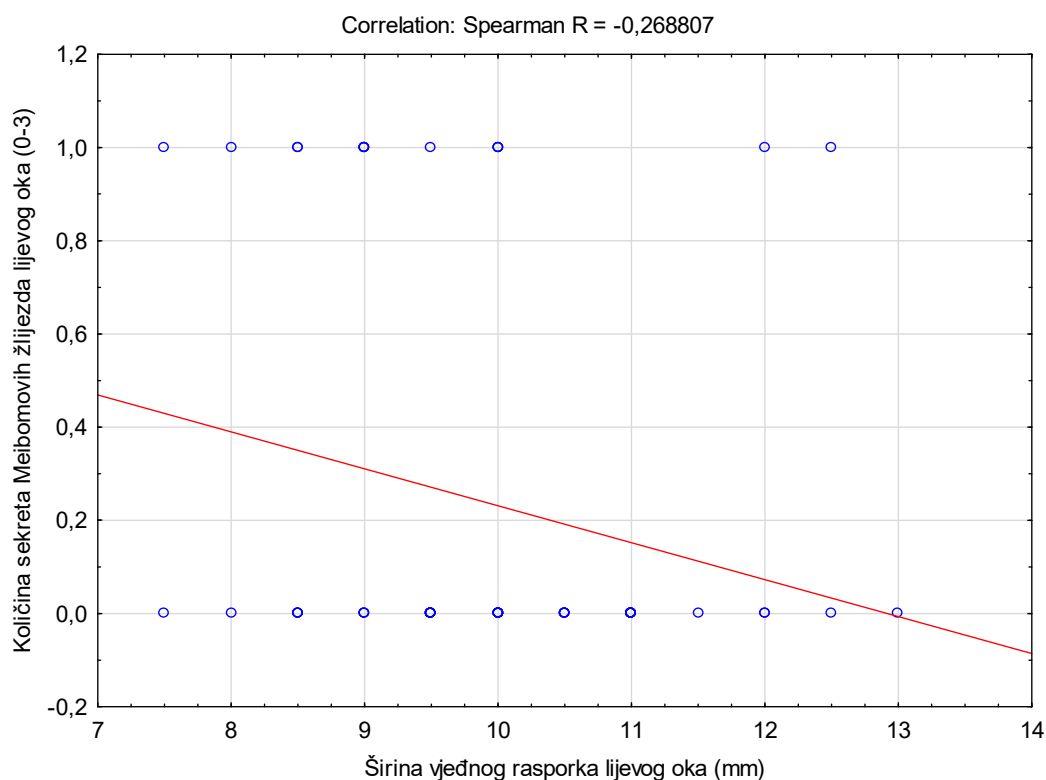
Spearmanov test rang-korelacije

Nakon podjele ispitanika prema prisustvu simptoma disfunkcije suznog filma, u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma širina vjeđnog rasporka bila je statistički značajno negativno povezana s količinom i izgledom sekreta Meibomovih žlijezda (Tablica 42., Slike 30. - 31.). Povezanost u ispitanika bez simptoma nije bila niti granično značajna te stoga ti rezultati nisu prikazani.

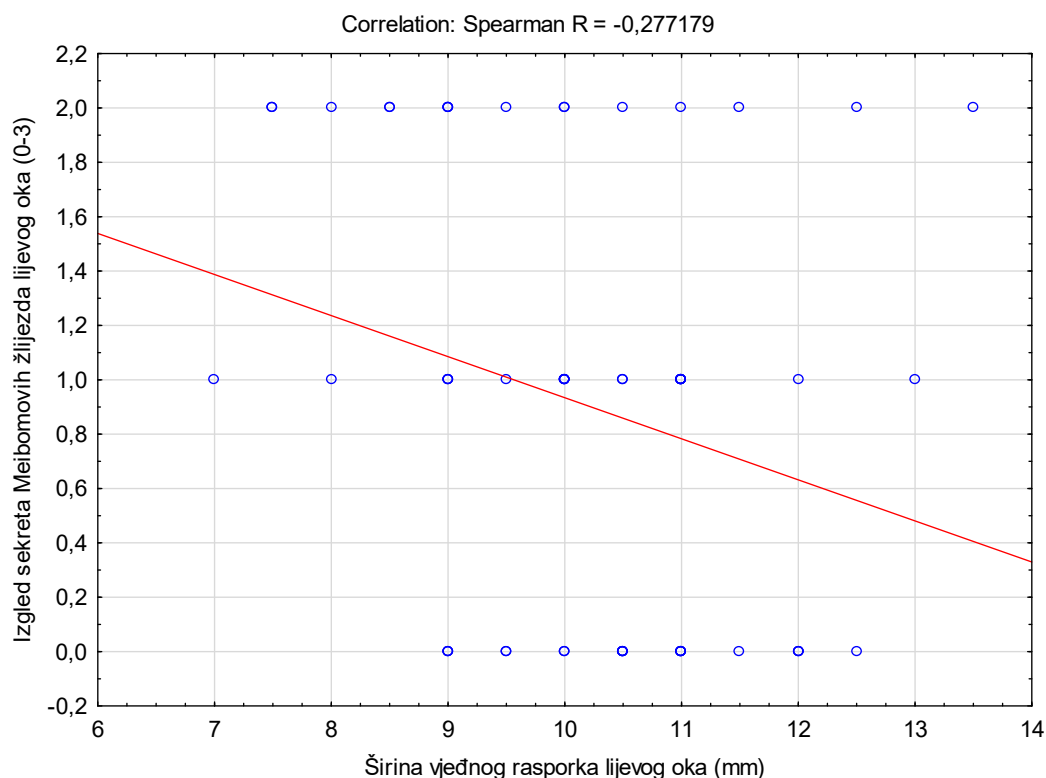
Tablica 42. Povezanost širine vjeđnog rasporka s količinom i izgledom sekreta Meibomovih žlijezda u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma
Količina sekreta Meibomovih žlijezda	Spearman R p	-0,269 0,038
Izgled sekreta Meibomovih žlijezda	Spearman R p	-0,277 0,032

Spearmanov test rang-korelacije



Slika 30. Povezanost širine vjeđnog rasporka i količine sekreta Meibomovih žlijezda u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.



Slika 31. Povezanost širine vjeđnog rasporka i izgleda sekreta Meibomovih žlijezda u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

5.4.2.4. Povezanost širine vjeđnog rasporka s invazivnim testom pucanja suznog filma

Širina vjeđnog rasporka u svih ispitanika uključenih u istraživanje nije bila povezana s TBUT-om ($r = -0,020$, $p = 0,589$). No, podjelom ispitanika u skupine prema životnoj dobi i spolu utvrđena je statistički značajna negativna povezanost širine vjeđnog rasporka i TBUT-a u ispitanika mlađe i starije životne dobi, jače izražena u mlađih muškaraca i žena (muškarci: $p = 0,004$; žene: $p < 0,001$), slabije u starijih muškaraca ($p = 0,015$), a u starijih žena je nije bilo ($p > 0,05$) (Tablica 43).

Podjelom ispitanika u skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma, nije utvrđena značajna povezanost širine vjeđnog rasporka i TBUT-a niti u jednoj skupini te stoga ti rezultati nisu prikazani.

Tablica 43. Povezanost širine vjeđnog rasporka s invazivnim testom pucanja suznog filma u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka oba oka	
		Skupina 1	Skupina 2
TBUT oba oka	r p	-0,232 <0,001	-0,137 0,009
Muškarci	r p	-0,215 0,004	-0,180 0,015
Žene	r p	-0,273 <0,001	-0,107 0,151

Spearmanov test rang-korelacije

5.4.2.5. Povezanost širine vjeđnog rasporka s bojanjem rožnice fluoresceinom

U svih ispitanika uključenih u istraživanje širina vjeđnog rasporka nije bila statistički značajno povezana s bojanjem rožnice fluoresceinom ($R = -0,004$, $p = 0,951$), a nije bilo značajne povezanosti između širine vjeđnog rasporka i bojanja rožnice niti nakon podjele ispitanika u skupine prema životnoj dobi i spolu (Tablica 44.)

Tablica 44. Povezanost širine vjeđnog rasporka s bojanjem rožnice fluoresceinom u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka oba oka	
		Skupina 1	Skupina 2
Bojanje rožnice fluoresceinom oba oka	Spearman R p	0,081 0,379	-0,011 0,903
Muškarci	Spearman R p	0,159 0,225	0,012 0,925
Žene	Spearman R p	0,095 0,469	-0,057 0,664

Spearmanov test rang-korelacije

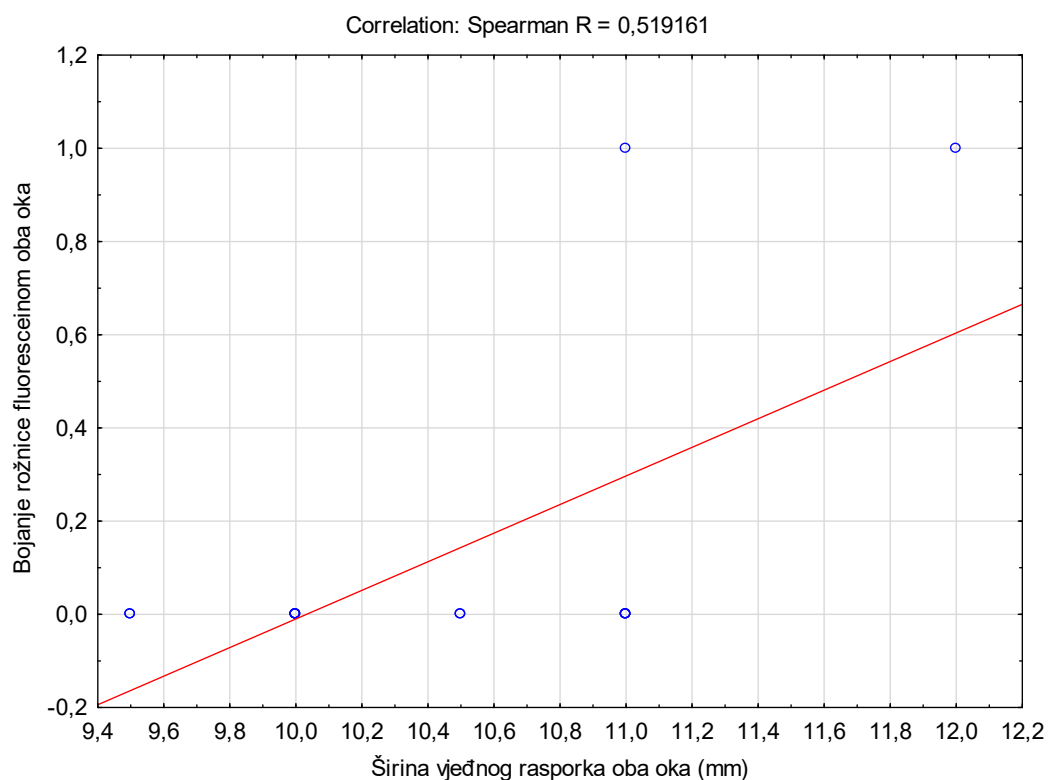
No, nakon podjele ispitanika prema prisustvu simptoma disfunkcije suznog filma, u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma širina vjeđnog rasporka bila je statistički značajno pozitivno povezana s bojanjem rožnice fluoresceinom (Tablica 45.,

Slika 32.). Povezanost u ispitanika bez simptoma nije bila niti granična pa ti rezultati nisu prikazani.

Tablica 45. Povezanost širine vjeđnog rasporka s bojanjem rožnice fluoresceinom u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

		Širina vjeđnog rasporka u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma
Bojanje rožnice fluoresceinom	Spearman R p	0,519 0,047

Spearmanov test rang-korelacije



Slika 32. Povezanost širine vjeđnog rasporka i bojenja rožnice fluoresceinom u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma.

5.4.2.6. Povezanost širine vjeđnog rasporka s naborima spojnice paralelnima s rubom vjeđe

Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe općenito nisu bili značajno povezani sa širinom vjeđnog rasporka u svih ispitanika uključenih u istraživanje ($R = 0,043$, $p = 0,504$), no podjelom ispitanika u skupine prema životnoj dobi, u onih mlađe dobi utvrđena je granično značajna slaba pozitivna povezanost između širine vjeđnog rasporka i nabora spojnice ($R = 0,179$, $p = 0,050$) dok ostale povezanosti nisu bile niti granično značajne (Tablica 46.).

Tablica 46. Povezanost širine vjeđnog rasporka s naborima spojnice paralelnima s rubom vjeđe u ispitanika podijeljenih u skupine prema životnoj dobi i spolu.

		Širina vjeđnog rasporka oba oka	
		Skupina 1	Skupina 2
LIPCOF oba oka	Spearman R p	0,179 0,050	0,051 0,582
Muškarci	Spearman R p	0,199 0,127	0,079 0,545
Žene	Spearman R p	0,205 0,116	0,045 0,734

Spearmanov test rang-korelacije

Podjelom ispitanika u skupine prema prisustvu/odsustvu simptoma disfunkcije suznog filma, nije utvrđena značajna povezanost širine vjeđnog rasporka i nabora spojnice paralelnih s rubom vjeđe niti u jednoj skupini pa ti rezultati nisu prikazani.

5.5. LOGISTIČKA REGRESIJA

Kako bi se procijenili rizici prisutnosti disfunkcije suznog filma povezani uz pojedine varijable podaci su analizirani logističkom regresijom. Rezultati binarne logističke regresije za dihotomnu varijablu disfunkciju suznog filma prikazani su u Tablicama 47. do 50.

Tablica 47. Rizik prisutnosti disfunkcije suznog filma u ovisnosti o demografskim obilježjima ispitanika.

	Estimate	OR (95%CI)	p
Životna dob (god.)	0,00703	1,01 (0,99-1,03)	0,493
Spol (žene)	0,00000	1,00 (0,49-2,06)	1,000

Logistička regresija je pokazala da u ovom istraživanju nije bilo povezanosti između životne dobi i disfunkcije suznog filma (OR=1,01) kao niti utjecaja spola na prisutnost iste (OR=1,00) ($p > 0,05$) (Tablica 47.). To se može objasniti činjenicom da je dizajn istraživanja zahtijevao uključivanje jednakog broja ispitanika u dvije dobne skupine unutar kojih je također trebao biti jednaki broj osoba oba spola i jednaki broj osoba sa i bez disfunkcije suznog filma.

Iz istog je razloga, te s obzirom da nije bilo potrebe OR standardizirati za dob i spol, cijela logistička regresija provedena kao jednostruka (univarijatna) a ne višestruka (multipla).

Tablica 48. Rizik prisutnosti disfunkcije suznog filma u ovisnosti o širini vjeđnog rasporka.

	Estimate	OR (95%CI)	p
Širina vjeđnog rasporka	0,14959	1,16 (0,88-1,54)	0,294

Širina vjeđnog rasporka u ovom istraživanju nije značajnije utjecala na rizik prisutnosti disfunkcije suznog filma, iako $OR > 1,00$ pokazuje tendenciju da bi veća širina vjeđnog rasporka mogla biti rizični čimbenik odnosno povećavati rizik za disfunkciju suznog filma (Tablica 48.). Ovdje je moguće pretpostaviti da bi povećanje uzorka ispitanika u istraživanju i njihova nasumična raspodjela možda pokazala da li je opažena tendencija rizika statistički značajna.

Tablica 49. Rizik prisutnosti disfunkcije suznog filma u ovisnosti o subjektivnom simptomima.

	Estimate	OR (95%CI)	p
Ukupan zbroj bodova u Scheinovom upitniku	1,93977	6,17 (1,94-6,96)	<0,001

Izraženije subjektivne smetnje iskazane većim ukupnim zbrojem bodova u Scheinovom upitniku značajno su bile povezane s povećanim rizikom prisutnosti disfunkcije suznog filma (OR=6,17, p<0,001) (Tablica 49.).

Tablica 50. Rizik prisutnosti disfunkcije suznog filma u ovisnosti o kliničkim znakovima.

	Estimate	OR (95%CI)	p
CCRLU	2,43589	11,46 (3,24-40,25)	<0,001
NIBUT	-1,21483	0,29 (0,09-0,89)	0,029
Količina sekreta Meibomovih žlijezda	1,58882	4,89 (2,49-9,64)	<0,001
Izgled sekreta Meibomovih žlijezda	1,28678	3,62 (1,95-6,71)	<0,001
TBUT	-2,53128	0,08 (0,02-0,32)	<0,001
Bojanje rožnice fluoresceinom	1,50388	4,49 (2,32-8,74)	<0,001
LIPCOF	2,39505	10,97 (4,87-24,69)	<0,001

Isto je utvrđeno i za sve kliničke znakove disfunkcije suznog filma (Tablica 50.). Povećanje rizika prisutnosti disfunkcije suznog filma bilo je značajno povezano s izraženijom hiperemijom spojnice (OR=11,46), kraćim NIBUT-om (OR=0,29), smanjenom količinom (OR=4,89) i promijenjenim izgledom (OR=3,62) sekreta Meibomovih žlijezda, skraćenim TBUT-om (OR=0,08), te jače pozitivnim bojanjem rožnice fluoresceinom (OR=4,49) i izraženijim naborima spojnice (OR=10,97). Među navedenim varijablama koje povećavaju rizik i povezane su s disfunkcijom suznog filma posebno treba izdvojiti povećani CCRLU (E. 2,43589), skraćeni TBUT (E. - 2,53128) i povećani LIPCOF (E. 2,39505) (Tablica 50.).

6. RASPRAVA

Temeljna razmatranja ove rasprave svode se na nekoliko ključnih pitanja:

1. Postoji li, i kakva je povezanost širine vjeđnog rasporka u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed te simptoma i kliničkih znakova disfunkcije suznog filma kod zdravih ispitanika s obzirom na dob i spol?
2. Postoji li razlika u širini vjeđnog rasporka u različitim dobnim i spolnim skupinama?
3. Kakva je povezanost simptoma i kliničkih znakova disfunkcije suznog filma u različitim dobnim i spolnim skupinama?
4. Može li širina vjeđnog rasporka mjerena na ovakav način, biti indikator i prediktor disfunkcije suznog filma?

6.1. DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA

U istraživanje je bilo uključeno 120 osoba oba spola podijeljenih prema životnoj dobi u dvije skupine i to s podjednakim omjerom muškaraca i žena među skupinama. Prosječna životna dob ispitanika skupine 1 bila je $30,97 \pm 9,24$ godine (Med 28, Min 19, Max 50; SE 1,19), a ispitanika skupine 2 $62,05 \pm 10,23$ godine (Med 59, Min 51, Max 87; SE 1,32). Dob i spol su, kako je već i naglašeno u uvodu, najkonzistentniji rizični faktori za razvoj disfunkcije suznog filma (poglavlje 1.5.). No, koja je njihova uloga točno i na koji način uvjetuju nastanak i progresiju disfunkcije suznog filma? Ili bolje rečeno, koja je uloga dobi i spola u patofiziologiji disfunkcije suznog filma, te koje su moguće biološke i hormonalne promjene struktura očne površine koje modificiraju funkciju suznog filma i utječu na zdravlje oka? Utjecaj spola na funkciju i zdravlje oka je poznat tisućama godinama. Prvi znanstveni radovi na tu temu datiraju od 1888. godine (280). Od tog vremena do danas s napretkom molekularne biologije, prepoznate su biološke razlike među spolovima na biokemijskoj i staničnoj razini. Štoviše, svaka stanica ima spol. Ekspresija gena na spolnim kromosomima može biti različita zbog utjecaja mejoze, inaktivacije X kromosoma te genetičkog otiska. Posljedično, genetičke i fiziološke razlike u kombinaciji s okolišnim faktorima uvjetuju

brojne razlike u zdravlju i bolesti među spolovima (281). Biološke spolne razlike uzrokuju brojne strukturne i funkcionalne aspekte oka koji se na molekularnoj razini manifestiraju u razlikama u tkivnoj morfologiji, genskoj ekspresiji, sintezi proteina te dinamici epitelnih stanica. Posljedično na fiziološkoj razini nastaju razlike u proizvodnji lipida, sekreciji mucina, odvodnji suza, stabilnosti suznog filma, frekvenciji treptanja i općenito imunološkoj funkciji oka što u patološki promijenjenim okolnostima može doprinijeti razvoju znakova i simptoma disfunkcije suznog filma (282). Stoga, osim djelovanja spolnih hormona na Meibomove žlijezde, suznu žlijezdu, spojnicu i rožnicu te druge strukture oka (prednja sobica, šarenica, cilijarno tijelo, vitreus, retina), gore spomenute spolne razlike nastaju i zbog utjecaja hormona hipotalamo–hipofizne osovine te različite ekspresije gena na spolnim kromosomima i spolno specifičnih autosomalnih faktora i epigenetike (282). Utjecaj navedenih faktora uvjetuje biološke, perceptualne, sociološke i kulturalne razlike među spolovima (283). Stoga je spol važan čimbenik u prezentaciji i riziku pojavljivanja disfunkcije suznog filma, imunološkom odgovoru oka te reakciji na bol i osjetljivost struktura očne površine, kao i u ponašanju i suradljivosti unutar zdravstvenog sustava (283). Kako je već i navedeno u uvodu (poglavlje 1.5.), ženski spol je uz dob, najkonzistentniji i u znanstvenoj literaturi najistraživaniji rizični faktor za razvoj disfunkcije suznog filma diljem svijeta. S obzirom na značajnu diskrepanciju u omjeru žena i muškaraca u brojnim kliničkim studijama te najčešće većoj zastupljenosti žena, velike populacijske studije poput WHS (*Women's Health Study*) i PHS (*Physicians' Health Study*) u SAD-u su homogenije i konzistentnije u prezentaciji rizičnih faktora i prevalencije disfunkcije suznog filma. Studija WHS iz 2003. godine je uključivala 39000 žena u dobi od 49 godina naviše, a PHS iz 2009. godine 25000 muškaraca u dobi od 50 i više godina (42, 43). Pokazano je da žene imaju 70 % veći rizik od pojave bolesti suhog oka i da je taj rizik značajno povezan s dobi. Osim toga, prevalencija bolesti suhog oka bila je 1,8 puta veća kod žena (7,8 % kod žena nasuprot 4,3 % kod muškaraca). Slične rezultate je pokazala i druga studija u SAD-u, pri čemu je rizik kod žena bio 50 % veći u odnosu na muškarce s značajnom dobnom povezanošću (45). S druge strane, BOSS studija (Beaver Dam Offspring Study, USA) iz 2014. godine koja je pak uključila i mlađe sudionike u dobi od 21 do 84 godine, pokazala je isti trend kao WHS/PHS studije. Ukupna prevalencija bolesti suhog oka bila je 14,5 % te 1,7 puta veća kod žena. Zanimljivost ove studije je prepoznavanje nadomjesne hormonalne terapije kod postmenopauzalnih žena kao dodatnog rizičnog faktora za razvoj bolesti suhog oka, ali i trend rasta prevalencije

bolesti suhog oka i kod mlađih ljudi (36). Također, još jedna populacijska studija (NHWS) iz 2017. godine provedena u SAD-u među 75000 sudionika starijih od 18 godina s podjednakim omjerom žena i muškaraca, pokazala je da spolne razlike u prevalenciji bolesti suhog oka rastu s dobi (2). Primarni cilj ove studije bio je prikaz ukupne prevalencije dijagnosticirane bolesti suhog oka u odrasloj populaciji u SAD-u (6,8 % što odgovara populaciji od 16,4 milijuna ljudi). Ispitanici sa simptomatskim, ali nedijagnosticiranim suhim okom su bili izuzeti iz daljnje statističke obrade. Takvih ispitanika je bilo 2,5% što odgovara populaciji od 6 milijuna ljudi u SAD-u. To je značajna brojka prema ukupnoj populaciji, ali i u odnosu na udio dijagnosticiranih bolesnika što ukazuje na važnost prisutnosti i prepoznavanja disfunkcije suznog filma u svakodnevnoj kliničkoj praksi, kako oftalmologa tako i liječnika drugih specijalnosti. Zanimljivost ove studije je i u prikazu dobne i spolne raspodjele prevalencije dijagnosticirane bolesti suhog oka što je u skladu s prethodno prikazanim rezultatima drugih studija. Iako su žene u mlađoj dobnoj skupini (18 - 34 godine) imale neznatno višu prevalenciju u odnosu na muškarce (2,9 % vs. 2,6 %) ta se razlika udvostručila u dobnoj skupini ≥ 75 godina (22,5 % vs. 12,6 %). Značajno, čak trostruko povećanje ukupne prevalencije pokazano je upravo u dobnoj skupini ≥ 50 godina u odnosu na mlađu populaciju (11,3 % vs. 3,4 %). Žene dobne skupine ≥ 50 godina su imale 2 puta veću prevalenciju u odnosu na muškarce (15,2 % vs. 7 %). Osim toga, ova je studija dokazala da je rizik od pojave bolesti suhog oka je 5 puta veći u starijoj dobnoj skupini i to 2 puta veći kod žena u odnosu na muškarce (2). Prva studija koja je dokazala rast prevalencije i incidencije bolesti suhog oka kroz vrijeme, bila je velika retrospektivna studija iz 2019. godine čiji su se rezultati temeljili na analizi baze podataka 9,7 milijuna korisnika vojno-medicinskog sustava (MHS) u SAD-u, u dobi od 2 do 80+ godina kroz period od 2003. do 2015. godine (41). Ukupna prevalencija bolesti suhog oka iznosila je 5,28 % s većom zastupljenošću kod žena (7,78 % vs. 2,96 %). Nadalje, dokazan je linearni rast prevalencije bolesti suhog oka s dobi u svim istraživanim dobnim skupinama (0,20 %, 2,03 %, 5,74 % i 11,66 % za skupine 2 - 17, 18 - 39, 40 - 49 i 50+ godina). Žene su u svim dobnim skupinama imale 2 do 3 puta veću prevalenciju (0,27 % vs. 0,13 % u skupini 2 - 17, 3,07 % vs. 1,26 % u skupini 18 - 39, 8,50 % vs. 2,80 % u skupini 40 - 49, te 15,89 % vs. 7,02 % u skupini 50+ godina). Uključujući kriteriji su bile kombinacije dijagnoza, terapijskih i dijagnostičkih postupaka te terapijskih preporuka koje se vezuju uz bolest suhog oka. Najučestaliji indikator i to u 88 % slučajeva bila je upravo nespecifična insuficijencija suznog filma. U odnosu na NHWS

studiju, uočljivo je da su rezultati projekcijske prevalencije u odrasloj dobi usporedivi (6,7 %) kao i trend rasta ukupne prevalencije s dobi. Za razliku od NHWS, ova je studija objavila značajno višu prevalenciju bolesti suhog oka kod žena u svim dobnim skupinama, pa tako i u mlađoj odrasloj dobnj skupini. Osim toga, kao i u NHWS studiji vrijednosti ukupne prevalencije su bile značajno niže u odnosu na BOSS studiju. Objašnjenje opisanih razlika leži prije svega u primjeni različite metodologije i dijagnostičkih kriterija, a koja se u BOSS studiji svodila na prisutnost simptomatologije suhog oka što su značajno niži kriteriji u odnosu na gore navedene indikatore. Također, taj podatak može ukazivati i na veliki postotak nedijagnosticiranih simptomatskih bolesnika koji ne traže liječničku pomoć. S druge strane, značajno više vrijednosti ukupne prevalencije kod žena i muškaraca u odnosu na WHS/PHS studiju se mogu objasniti s pojavom rasta prevalencije i incidencije kroz vrijeme, a koja je u ovoj studiji bila značajno izražena upravo u ispitivanoj, 50+ dobnj skupini. Također, ne treba zanemariti ni činjenicu sve veće svjesnosti o postojanju i važnosti disfunkcije suznog filma u općoj populaciji, ali i općenito brige o cjelokupnom zdravlju ljudi.

Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II) je u svom epidemiološkom izvješću iz 2017. godine objavila rezultate provedene meta-analize preko 500 velikih kohortnih studija diljem svijeta u desetogodišnjem razdoblju do 2015. godine. Prema tom izvješću, prevalencija bolesti suhog oka temeljena na simptomima sa ili bez prisutnosti znakova se kretala u rasponu od 5 do 50 %. Značajno više vrijednosti pa i veću varijabilnost rezultata, pokazale su studije čija se metodologija temeljila na prisutnosti znakova i to od 5,8 do 75 % (3). Varijabilnost tih rezultata ne čudi s obzirom da još uvijek ne postoje globalno primjenjivi dijagnostički kriteriji kao niti dogovorna rješenja u bilo kojem aspektu disfunkcije suznog filma, pa tako niti po pitanju definicije. Žene su u većini studija imale značajno više simptoma od muškaraca, i to 1,33 do 1,74 puta (30 - 32, 34 - 37). Iznimku čine tek dvije studije u Kini i Mongoliji koje nisu dokazale značajnu razliku između žena i muškaraca te studija provedena u Singapuru na 3280 sudionika u dobi od 40 do 80 godina. Ta je studija objavila niže vrijednosti ukupne prevalencije (6,5 %) te kontradiktorno ostalim provedenim studijama značajno veće vrijednosti prevalencije simptomatske bolesti suhog oka kod muškaraca (8,2% naspram 4,9%) (38 - 40). Zamjetan nedostatak brojnih studija je neuključivanje populacije mlađe od 40 godina. Osim opisanih NHWS, BOSS i MHS studija (2, 36, 41), još je jedna studija iz Velike Britanije istraživala mlađu i to žensku populaciju prema

dobnim skupinama (33). U svima su objavljene niže vrijednosti prevalencije bolesti suhog oka, i to u rasponu od 2 do 20 %.

Govoreći o aspektu dobi, meta-analiza epidemiološkog izvješća iz 2017. godine je pokazala linearnu povezanost prevalencije sa dobi, osobito nakon 50-te godine i sa izraženijim razlikama između žena i muškaraca, kao i izraženijim povećanjem prevalencije i simptomatske i dijagnosticirane bolesti suhog oka nakon 80-te godine života. Najveće povećanje prevalencije s dobi kroz desetljeće je uočeno u kliničkim studijama temeljenima na znakovima disfunkcije suznog filma, i to za 10,55 % (3). Upravo su te činjenice uvjetovale metodologiju ovog doktorskog rada pri čemu su ispitanici bili podijeljeni u dvije dobne skupine s podjednakim omjerom žena i muškaraca unutar skupina kao i jednakim omjerom ispitanika sa i bez disfunkcije suznog filma. Osim toga, autor smatra da bi se takvom strukturom ispitanika mogla vjerodostojnije i značajnije utvrditi povezanost između ispitivanih varijabli s posebnim osvrtom na dob i spol. Vodeći se činjenicom o značajnosti i izraženosti simptoma i znakova disfunkcije suznog filma s povećanjem životne dobi kao i povećanjem prevalencije iznad 50-te godine života sa izražajnijom spolnom razlikom, a što je posebno istaknula Internacionalna radna skupina za suho oko u svom zadnjem epidemiološkom izvješću kao i druga prethodno opisana istraživanja (2, 3, 41), autor ovog rada je odabrao dob od 50 godina kao graničnu dob među ispitivanim skupinama.

No, kako su dob i starenje povezani sa disfunkcijom suznog filma i koji su mogući uzroci? Ukoliko se problemu pristupi sa aspekta strukture funkcionalne lakrimalne jedinice, jasno je da morfološke i/ili funkcionalne promjene bilo kojeg dijela mogu modificirati funkciju suznog filma. Prije svega, suzna žlijezda se značajno mijenja s dobi. Istraživanja su dokazala brojne histopatološke promjene glavne suzne žlijezde poput acinarne atrofije, periduktalne fibroze, interlobularne duktalne dilatacije i proliferacije te lipidne i limfocitne infiltracije (284, 285). Zanimljivo je da su morfološke promjene orbitalnog režnja u smislu difuzne atrofije i fibroze učestalije kod žena (285, 286), a što potkrepljuju rezultati kliničkih istraživanja prema kojima se sekrecija suza kod žena smanjuje nakon 50-te godine (287, 288). Osim toga, sa dobi se smanjuje laksitet vjeđa, Meibomove žlijezde postupno atrofiraju, a mukokutana granica migrira anteriorno (81, 289). Imunološki sustav također karakteriziraju brojne, s dobi uvjetovane promjene poput kronične upale, autoimunosti i povećane proizvodnje proupalnih citokina (290). S obzirom da su aktivacija i lokalna ekspresija brojnih

imunoloških faktora i proupalnih medijatora, gotovo patognomičan znak suhog oka pa i indikator bolesti, te odgovora na terapijske prokole u brojnim kliničkim istraživanjima, može se zaključiti da tipične metaboličke promjene stanica i imunoloških procesa povezanih sa dobi podupiru teoriju o disfunkciji suznog filma kao stanja povezanog sa dobi. Uz to, na molekularnoj razini starenje karakteriziraju povišen oksidativni stres i oštećenje DNA kao i mehanizama reparacije (291) što u konačnici sa svim ekstrinzičnim faktorima vodi u zamršeni vrtlog poremećene funkcije suznog filma.

Stoga, disfunkciju suznog filma nikako ne možemo smatrati s dobi uzrokovanom već s dobi povezanom, a što je sukladno rezultatima epidemioloških studija koje uključuju djecu i mlađe sudionike prema kojima prevalencija i incidencija rastu s dobi počevši od najranije životne dobi (3).

Zaključno, deskriptivnom analizom u ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna povezanost simptoma disfunkcije suznog filma sa životnom dobi i spolom iako je postojala veća izraženost simptoma kod žena u odnosu na muškarce i to u obje dobne skupine s time da je taj trend bio više izražen u starijoj dobnoj skupini. S obzirom da se istraživane dobne skupine nisu razlikovale prema demografskim obilježjima, te da je udio ispitanika koji su imali simptome disfunkcije suznog filma bio jednak u obje dobne skupine s podjednakom spolnom raspodjelom, može se zaključiti da je uzorak ispitanika bio homogen i usporediv. Nadalje, može se pretpostaviti da su vrijednosti ispitivanih varijabli kao i njihova međusobna usporedba u ovom istraživanju dali pouzdane rezultate.

6.2. ŠIRINA VJEDNOG RASPORKA

Širina vjednog rasporka u primarnom položaju oka definirana je kao vertikalna udaljenost između ruba gornje i donje vjeđe mjerena uzduž centralnog kornealnog refleksa. Strukturne i anatomske karakteristike vjeđa uvjetuju vanjski izgled i atraktivnost lica, ali imaju i važnu ulogu u planiranju rekonstruktivnih i estetskih zahvata u periokularnoj regiji te evaluaciji i praćenju postkirurških rezultata. Poznato je da prosječne dimenzije periokularnih struktura i normalne funkcionalne vrijednosti vjeđa i vjednog rasporka variraju ovisno o dobi, spolu te etničkoj i rasnoj pripadnosti (292 -

294). Stoga je poznavanje normalnih antropometrijskih vrijednosti od posebnog značaja ne samo u oftalmologiji i kontaktologiji, već i u drugim srodnim granama medicine kao što su traumatologija, onkologija, plastična kirurgija, pedijatrija i medicinska genetika. Osim toga, uključivanje pojma spolnog dimorfizma u analizu osobitosti humanog kraniofacijalnog kompleksa, posebno je područje interesa i drugih znanstvenih područja poput forenzike, antropologije i ortodontije. Dob i spol su ključni faktori koje je potrebno uzeti u obzir kod analize antropometrijskih istraživanja ispitivane populacije iste rase i etničke pripadnosti. Štoviše, veliko istraživanje među različitim populacijama na 3 kontinenta je pokazalo da su varijacije oblika lica u čak 12,9 % slučajeva uzrokovane spolom, dok su se značajno niže vrijednosti odnosile na podrijetlo i to 9,6 % (295). Nadalje, drugo istraživanje s istom metodologijom je na 1555 ispitanika u dobi od 3 do 25 godina dokazalo utjecaj spola na različite aspekte kraniofacijalnog kompleksa u svim dobnim skupinama, pa čak i u unutar svake godine počevši od najranije dobi (296). Objašnjenja za opisane razlike su multifaktorijalne prirode i kriju se u genetičkim, hormonalnim te funkcijskim čimbenicima. Također, neosporno je da starenje uzrokuje morfološke promjene vjeđa s određenim karakteristikama među različitim rasama. Istraživanje koje je uključivalo 3600 žena različitih dobnih skupina i rasnih pripadnosti, pokazalo je značajne promjene širine vjeđnog rasporka s dobi među svim etničkim skupinama i to u smislu smanjenja vertikalnih dimenzija vjeđnog rasporka. U zaključcima se kao vjerojatni uzrok navodi s dobi povezano opuštanje gornje vjeđe (297). Uz to, opservacijska studija je na osnovi usporednih fotografija vjeđa kroz vrijeme, naznačila ptozu gornje vjeđe 1 do 2 mm kao s dobi povezanu linearnu promjenu periorbitalnih struktura (298). Patofiziološke promjene vjeđa uvjetovane starenjem su dokazane u histološkim istraživanjima kao i CT snimkama vjeđa čime je dokazano s dobi povezano stanjenje orbikularnog mišića (299, 300). Novije istraživanje iz 2021. godine provedeno metodom trodimenzionalne kvantitativne antropometrije je potvrdilo gore navedene rezultate te dokazalo linearno smanjenje širine vjeđnog rasporka kod žena sa dobi. Opisani rezultat je objašnjen kombinacijom promjena koje nastaju s dobi kao što su ptoza gornje vjeđe te elevacija donje vjeđe. Osim toga, utjecaj starenja je bio posebno naglašen nakon 40. godine života (301). Isti trend je pokazan i u drugom istraživanju u kojemu su sudjelovali ispitanici oba spola, iako u toj studiji za razliku od drugih nije bilo gotovo nikakve razlike u prosječnim vrijednostima širine vjeđnog rasporka između žena i muškaraca. S druge strane, autori naglašavaju da vertikalne dimenzije vjeđnog

rasporka dosežu specifičnu razinu između 10. i 13. godine života (302). Sukladno prethodno navedenim istraživanjima, vjeđe postupno podliježu involutivnim promjenama koje postaju posebno vidljive nakon 40. godine. Skupina istraživača iz Indije je u svojim zaključcima naglasila značajniju progresiju involutivnih promjena nakon 45. godine unatoč prikazu kontradiktornih rezultata, a što je Zoumalan u svom naknadnom komentaru časopisu, također istaknuo kao pitanje koje bi trebalo dodatno istražiti, ali i ponuditi moguća objašnjenja (303, 304).

6.2.1. ŠIRINA VJEDNOG RASPORKA I DOB

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju gore navedene teze i trend smanjenja vjednog rasporka s dobi. Štoviše, skupina ispitanika starijih od 50 godina je imala srednje vrijednosti širine vjednog rasporka u svih 6 mjerenja oba oka, za 1,66 mm manje od ispitanika mlađe dobne skupine (19 - 50 godina) što je u rasponu dobnih promjena uočenih u kineskoj studiji (1,87 mm razlike između dobne skupine 20 - 29 godina te 50+). Osim toga, ta je statistički značajna razlika među skupinama bila osobito izražena kod žena ($8,98 \pm 1,20$ mm u dobnoj skupini 51 - 87 godina vs. $11,21 \pm 1,03$ mm u dobnoj skupini 19 - 50 godina). Price i sur. su u antropometrijskoj analizi dimenzija vjednog rasporka među afro-amerikanacima i bijelcima također dokazali statistički značajnu razliku među spolovima, dok su dobne razlike bile značajne tek kod afro-američkih žena (294). Isto tako, Takahagi i sur. su pronašli značajno suženje vjednog rasporka rasporka s dobi kod oba spola u japanskoj populaciji u Brazilu. Ta je značajna dobna razlika bila naglašenija kod žena te i nakon 50-te godine života ($9,10 \pm 1,65$ mm u skupini 20 - 29 godina te $7,33 \pm 1,29$ mm u skupini ≥ 50 godina) (305).

U ovom istraživanju, prosječne vrijednosti širine vjednog rasporka u skupini ispitanika mlađe životne dobi za svih 6 mjerenja iznosile su $10,93 \pm 0,88$ mm s rasponom od 9 do 13,5 mm, a vrijednosti iste u ispitanika starije životne dobi $9,27 \pm 1,07$ mm s rasponom od 7 do 12,5mm.

6.2.2. ŠIRINA VJEDNOG RASPORKA I SPOL

No, kakvi su rezultati antropometrijskih istraživanja koji se odnose na širinu vjednog rasporka u odrasloj populaciji kod žena i muškaraca prema do sada objavljenim radovima? Komparativna analiza se zbog dobno uvjetovanih razlika, odnosila na populaciju mlađih ispitanika u dobi od 18 do 40 godina. Srednje vrijednosti širine vjednog rasporka u dobnoj skupini 19 do 50 godina su u ovom istraživanju iznosile $10,65 \pm 0,59$ mm za muškarce te $11,21 \pm 1,03$ mm za žene što je statistički značajna razlika i usporediva s do sada objavljenim radovima među bijelcima s jednakim trendom viših vrijednosti kod žena. Farkas i sur. su objavili srednje vrijednosti za žene u Americi od 11,1 mm, a za muškarce 10,4 mm (306). Price i sur. su objavili nešto niže rezultate za bijelce u Americi, ali sa statistički značajnom razlikom među spolovima, i to 10,3 mm za žene i 9,4 mm za muškarce (294). S druge strane, Barretto i sur. su objavili slične vrijednosti širine vjednog rasporka kod žena i muškaraca u Americi s trendom viših vrijednosti kod žena (10,65 mm za žene i 10,25 mm za muškarce) (307). Gotovo identične rezultate među ženama i muškarcima je pokazalo istraživanje u Turskoj (10,4 mm za žene i 10,3 mm za muškarce) (308). Suprotno navedenim rezultatima, Kunjur i sur. su objavili više vrijednosti kod muškaraca, iako ta razlika nije bila statistički značajna (10,2 mm za muškarce i 9,8 mm za žene) (293). Isto tako, istraživanje u Srbiji nije pokazalo statistički značajnu razliku među spolovima. Naprotiv, muškarci su imali diskretno veće vrijednosti, a u usporedbi s prethodno navedenim istraživanjima, objavljene su iznimno niske srednje vrijednosti širine vjednog rasporka (9,43 mm za muškarce i 9,14 mm za žene u skupini ispitanika prosječne dobi 19 godina) (309). Tako niske vrijednosti su bile više usporedive s rezultatima drugih etničkih skupina i rasa poput istraživanja provedenog na Tajlandu koje je zanimljivo, objavilo potpuno identične vrijednosti za oba spola i to 9,5 mm (310). Slične, niže vrijednosti su također objavljene u japanskoj populaciji s jednakim trendom viših vrijednosti kod muškaraca bez statistički značajne razlike (9,23 mm muškarci i 9,1 mm žene) (311).

Nadalje, vezano uz druge populacije i etničke skupine prema do sada objavljenim radovima, uočljivo je da su najviše vrijednosti širine vjednog rasporka izmjerene u južnoj Indiji. Vasanthakumar i sur. su objavili slične srednje vrijednosti za

oba spola, i to 11,58 mm za žene te 11,30 mm za muškarce u dobnoj skupini od 18 do 26 godina (292). S druge strane, drugo istraživanje istog autora s istom metodom mjerenja na zasebnoj etničkoj skupini u istoj regiji je pokazalo također više vrijednosti, ali sa statistički značajnom razlikom među spolovima (11,48 mm za žene i 11,06 mm za muškarce) (312). Niže vrijednosti su očekivano objavljene za Azijate. Park i sur. su objavili 2008. godine slične vrijednosti za oba spola, 8,2 mm za žene te 8 mm za muškarce (302). Yu i sur. su 2019. godine objavili antropometrijsko istraživanje periokularnih struktura za kinesku i indijsku populaciju u Singapuru prema kojemu su srednje vrijednosti širine vjeđnog rasporka za Indijce iznosile 11,2 mm za žene te 10 mm za muškarce, a što je prema prethodno objavljenima istraživanjima značajno niža vrijednost u populaciji muškaraca. S obzirom na relativno mali uzorak u istraživanju, objavljeni rezultati se ne moraju smatrati reprezentativnima za cjelokupnu populaciju. Niže vrijednosti sa statistički značajnom spolnom razlikom su objavljene za kinesku populaciju i to 9,7 mm za žene te 8,4 mm za muškarce (313). Rezultati svih navedenih istraživanja su zbog bolje preglednosti prikazani u tablici 51.

Zaključno, varijacije u objavljenim rezultatima su prije svega odraz rasnih, genetičkih, geografskih i okolišnih faktora. S obzirom da su se opisana istraživanja odnosila na populaciju mlađih odraslih i zdravih ispitanika te da je eliminiran utjecaj dobi i starenja na periokularne strukture, može se zaključiti da su objavljene varijacije antropometrijskih mjerenja unutar istih populacija posljedica različitih metodologija i tehnika mjerenja. U ovom istraživanju, autor je odabrao metodu direktnog mjerenja koju je u kliničkoj praksi najjednostavnije izvesti pomoću prozirnog i nesavitljivog plastičnog milimetarskog ravnala. Manualna antropometrija tradicionalno predstavlja metodu direktnog antropometrijskog mjerenja uz pomoć kalipera ili milimetarskog ravnala (314). Novije metode uključuju indirektno mjerenje softverskom analizom digitalnih 2D fotografija te 3D stereofotogrametriju iz koje je nastala baza podataka 3D *Facial Norms* (315). Usprkos raširenoj uporabi indirektnih metoda u istraživačkim i kliničkim okolnostima te brojnim nedostacima tradicionalnih antropometrijskih mjerenja, usporedne studije nisu dokazale apsolutnu prevlast jedne metode nad drugom u kontekstu preciznosti i ponovljivosti mjerenja (316, 317). Štoviše, istraživanje iz 2021. godine je uspoređujući metode trodimenzionalne stereofotogrametrije i direktne antropometrije dokazalo najveće razlike upravo u periokularnoj regiji i to prvenstveno u horizontalnim dimenzijama vjeđnog rasporka. Navedena diskrepancija

u mjerenjima je objašnjena prirodom samog mjerenja koje zahtijeva direktan pristup te suradljivost ispitanika u smislu svjesnosti mjerenja i opuštenosti vjeđa (301). Nadalje, rezultati komparativne studije iz 1995. godine pokazuju da je manualno mjerenje širine vjeđnog rasporka pomoću milimetarskog ravnala jednako pouzdano kao i digitalno mjerenje (317). Prednost indirektna metode je s druge strane, u jednostavnosti, ponovljivosti i lakoći mjerenja koje ne zahtijeva značajan trud ispitivača niti posebnu suradljivost ispitanika što je od osobite važnosti kod djece. Nedostaci tih metoda su prije svega financijski aspekti zbog čega su većini kliničara potpuno nedostupni, ali i slabija primjenjivost i složenost inkorporiranja takvog strogo standardiziranog procesa u rutinski klinički pregled. Stoga je uporaba milimetarskog ravnala bila logičan odabir koji nije zahtijevao dodatni financijski trošak kao niti posebnu edukaciju ili dodatno utrošeno vrijeme koje bi narušilo rutinski algoritam svakodnevne kliničke prakse u oftalmološkoj ambulanti.

Slijedom navedenoga proizlazi da su vrijednosti širine vjeđnog rasporka izmjerene u ovom istraživanju kao i korelacije prema dobi i spolu, u podudarnosti sa rezultatima i opisanim trendovima u recentnoj literaturi, a korištena metoda mjerenja pouzdana, relevantna i primjenjiva u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

6.2.3. ŠIRINA VJEĐNOG RASPORKA I ISPITIVANE SKUPINE

U ovom istraživanju utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima širine vjeđnog rasporka između ispitivanih dobnih skupina. Vrijednosti istih su u svih šest mjerenja na oba oka bile značajno manje u skupini ispitanika starije životne dobi. Nadalje, utvrđena je i statistički značajna spolna razlika u izmjerenim srednjim vrijednostima širine vjeđnog rasporka između dobnih skupina, ali i unutar skupina s najvećom varijabilnošću kod žena.

6.2.4. PONOVLJIVOST MJERENJA ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA

Ponovljivost mjerenja širine vjeđnog rasporka u ovom istraživanju je bila izvrsna jer nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između tri

mjerenja širine vjednog rasporka desnog i lijevog oka, kao niti s obzirom na prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma. Skupine ispitanika su se značajno razlikovale u sva tri mjerenja na oba oka. Stoga se već jedno mjerenje na jednom oku može smatrati vjerodostojnim i mjerodavnim. S obzirom da ovo istraživanje nije uključivalo djecu i osobe slabije suradljivosti kao i osobe s prisutnom patologijom ili operativnim zahvatom u periokularnoj regiji, sve navedeno se odnosi na populaciju zdravih i odraslih punoljetnih osoba.

Tablica 51. Literarni pregled dosadašnjih antropometrijskih istraživanja s prikazom srednjih vrijednosti širine vjednog rasporka među različitim populacijama.

Autori (referencija)	Godina	Veličina uzorka	Populacija	Širina vjednog rasporka (mm)	
				Muškarci	Žene
Farkas i sur. (306)	1994.	M - 52	Sjeverna Amerika - bijelci	10,4	11,1
		Ž - 51			
Price i sur. (294)	2009.	M - 33	Sjeverna Amerika - bijelci	9,4	10,3
		Ž - 56			
Barretto i sur. (307)	1999.	Ukupno - 65	Sjeverna Amerika - bijelci	10,25	10,65
Bozkir i sur. (308)	2003.	M - 228	Turska	10,3	10,4
		Ž - 272			
Kunjur i sur. (293)	2005.	M - 13	bijelci	10,2	9,8
		Ž - 13			
Knezi i sur. (309)	2020.	M - 45	Srbija	9,43	9,14
		Ž - 45			
Preechawai i sur. (310)	2011.	M - 51	Tajland	9,5	9,5
		Ž - 50			
Takahagi i sur. (305)	2008.	Ukupno - 114	Japan	9,23	9,1
Vasanthakumar i sur. (292)	2013.	M - 100	Južna Indija	11,3	11,58
		Ž - 100			
Vasanthakumar i sur. (312)	2011.	M - 150	Južna Indija - Malezija	11,06	11,48
		Ž - 150			
Parki sur. (302)	2008.	M - 234	Azija	8	8,2
		Ž - 264			
Yu i sur. (313)	2019.	M - 40	Indijci - Singapur	10	11,2
		Ž - 30			
Yu i sur. (313)	2019.	M - 85	Kinezi - Singapur	8,4	9,7
		Ž - 65			

6.3. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma je u ovom istraživanju utvrđivana uporabom modificiranog Scheinovog upitnika prevedenog na hrvatski jezik. S obzirom da su praktičnost, ponovljivost, dijagnostička točnost i pouzdanost u smislu diskriminacije bolesti suhog oka potvrđene u kliničkim studijama (169, 318), autor je isti odabrao kao valjani dijagnostički instrument za brzu, jednostavnu i praktičnu detekciju prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma kod ispitanika. Upitnik se pokazao iznimno praktičnim u kliničkoj praksi jer je za njegovo uzimanje u ovom istraživanju bilo potrebno svega oko jedne minute vremena neovisno o dobi pacijenta. Važnost evaluacije prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma kao i njihova kvantifikacija putem upitnika je posebno naglašena u metodološkom izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko (19). Pri tomu nije navedena isključiva prednost pojedinog upitnika jer ih je zbog različitih karakteristika, dizajna i uopće aspekata bolesti suhog oka na koju se primarno odnose, gotovo nemoguće uspoređivati. Prema tome odabir upitnika se prvenstveno bazira na evaluaciji svrhe koju bi taj upitnik trebao ispuniti kako u kliničkim, tako i u epidemiološkim studijama. Osnova modificiranog Scheinova upitnika su pitanja o frekvenciji šest najčešćih simptoma disfunkcije suznog filma s odgovorima numeriranim od 0 do 4 (169). U ovom istraživanju, njegova je svrha prije svega evaluacija prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma te usporedba sa ispitivanim varijablama. Ukupan broj bodova pri tomu nije označavao prisutnost bolesti suhog oka kao ni gradaciju težine kliničke slike. Uz to, ispitanici kojima je srednja vrijednost ukupnog zbroja bodova u Scheinovom upitniku iznosila 0, su bili isključeni iz ovog dijela analize. Pri tomu je važno podsjetiti na značajan broj asimptomatskih bolesnika kao i čestu pojavu inkonzistentnosti između subjektivnih simptoma i kliničkih znakova bolesti suhog oka (319). Uzroci navedenih diskrepancija mogu biti posljedica neurosenzornih abnormalnosti pri čemu smanjena osjetljivost rožnice potencira slabiji intezitet simptoma i manje izražen utjecaj na kvalitetu života (320). U ovom istraživanju, prosječan ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku je u ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma iznosio $6,73 \pm 3,69$, te se kretao u rasponu od 1 do 21 od maksimalnih 24 boda. Paugh i sur. su pak utvrdili dijagnostičku graničnu vrijednost modificiranog Scheinovog upitnika od 7,5 bodova na uzorku 377 ispitanika s

dijagnosticiranom bolešću suhog oka različite etiologije i zdravih kontrola (318). Što nam to govori? Znači li to da ovim istraživanjem prosječno nisu detektirani ispitanici koji prema subjektivnim simptomima ispunjavaju dijagnostički kriterij bolesti suhog oka? Ne, jer je patofiziologija disfunkcije suznog filma daleko zamršenija i kompleksnija da bi u svojoj biti i svim aspektima adekvatno zadovoljila dijagnostičke kriterije unutar granica jednoga upitnika. Globalno prihvaćenog rješenja u smislu dijagnostike i definicije bolesti suhog oka do sada nema. I kako je već navedeno, nijedan upitnik nije savršen, svaki ima svoje mogućnosti i ograničenja. Originalni je Scheinov upitnik, između ostaloga primarno razvijen sa svrhom istraživanja prevalencije disfunkcije suznog filma među starijom populacijom u velikoj epidemiološkoj studiji u SAD-u (56, 321). Ispitanici u ovom istraživanju su zdravi pojedinci nasumice odabrani u oftalmološkoj ambulanti, a ne ispitanici s već dijagnosticiranom bolešću suhog oka kao u validacijskom istraživanju. Osim toga, prema smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II), Azijskog društva za suho oko (ADES), Američke akademije za oftalmologiju i međunarodne skupine stručnjaka s novom globalnom definicijom i dijagnostičkim kriterijima bolesti suhog oka (New Global Consensus Definition), prisutnost subjektivnih simptoma naglašena je kao ključni, ali ne i jedini dijagnostički kriterij bolesti suhog oka (12, 14, 15, 19). Pri tomu, ADES i grupa međunarodnih stručnjaka dodatno pojednostavnjuju kriterije s naglaskom na prisutnost jednog simptoma te kliničku prezentaciju bolesti suhog oka kao i dostupnost potrebnog instrumentarija sa aspekta svakodnevne kliničke prakse (12, 15).

Nadalje, svrha ovog dijela istraživanja nije bila utvrđivanje prevalencije disfunkcije suznog filma kao niti kvantifikacija težine kliničke slike, već detekcija simptoma disfunkcije suznog filma te utvrđivanje korelacija između ispitivanih varijabli s posebnim osvrtom na dob i spol. Stoga se može zaključiti da je odabrani upitnik ispunio svoju svrhu, a njegova uporaba se pokazala iznimno jednostavnom i praktičnom u kliničkim uvjetima.

6.3.1. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA I DOB

Ispitanici starije dobne skupine su imali veći prosječni zbroj bodova u Scheinovom upitniku u odnosu na mlađu skupinu, no ta razlika nije bila niti granično značajna ($7,10 \pm 3,92$ vs. $6,37 \pm 3,48$). Kako je već opisano u poglavlju o demografskim karakteristikama ispitanika, u ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna

povezanost simptoma disfunkcije suznog filma i starije dobi već se rezultati mogu opisati u kontekstu postojanja tendencije povećanja simptoma disfunkcije suznog filma u starijoj životnoj dobi ($p=0,447$). Slične rezultate je objavio i Schein 1997. godine koji također nije pronašao značajnu povezanost simptoma bolesti suhog oka i dobi ispitanika (56, 321). Iako je veći broj epidemioloških istraživanja dokazao statistički značajnu povezanost simptoma bolesti suhog oka i životne dobi (30, 31, 33, 34, 38, 42, 43, 45, 49 - 51, 55), manji broj istraživanja kao i ovo, nije potvrdio značajnu povezanost navedenih varijabli (35, 37, 40, 56, 57). Rezultati ovog istraživanja se djelomice mogu objasniti veličinom uzorka i dizajnom istraživanja, a s druge strane većina opisanih studija se odnosila na populaciju ispitanika starijih od 40 godina, dok su ovim istraživanjem bili obuhvaćeni i mlađi ispitanici životne dobi od 19 godina nadalje.

6.3.2. SIMPTOMI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA I SPOL

Iako su žene u obje dobne skupine imale veći ukupni broj bodova u Scheinovom upitniku nego muškarci unutar istih skupina, te razlike nisu bile statistički značajne. Stoga, ovim istraživanjem nije dokazana statistički značajna povezanost ženskog spola i simptoma disfunkcije suznog filma. Najveći prosječni zbroj bodova u Scheinovom upitniku su imale žene starije životne dobi ($7,80 \pm 4,99$) što je u odnosu na žene mlađe dobne skupine ($6,93 \pm 3,58$) i muškarce iste životne dobi ($6,40 \pm 2,44$) bilo izraženije u smislu tendencije. Paugh i sur. su pak dokazali visoko značajnu povezanost ukupnog broja bodova u modificiranom Scheinovom upitniku te životne dobi i ženskog spola (318). S druge strane, ženski je spol uz životnu dob najkonzistentniji rizični faktor za razvoj disfunkcije suznog filma (3), pa i prisutnost simptoma što je potvrđeno u brojnim epidemiološkim istraživanjima (30 - 32, 34 - 37). Iznimku čine tek dvije studije u Kini i Mongoliji koje nisu dokazale značajnu razliku između žena i muškaraca te studija provedena u Singapuru koja je kontradiktorno ostalim provedenim studijama dokazala značajno veće vrijednosti prevalencije simptomatske bolesti suhog oka kod muškaraca (8,2 % vs. 4,9 %) (38 - 40). S obzirom da se povezanost simptoma disfunkcije suznog filma te ženskog spola i dobi u ovom istraživanju opisuje u smislu tendencije, autor smatra da bi se značajnije korelacije dokazale povećanjem ispitivanog uzorka.

6.4. KLINIČKI ZNAKOVI DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Klinička istraživanja koja su se temeljila na prisutnosti kliničkih znakova kao isključivim dijagnostičkim kriterijem disfunkcije suznog filma, pokazala su iznimnu varijabilnost rezultata prevalencije bolesti suhog oka u odnosu na istraživanja koja su uključivala i prisutnost simptoma. Prema rezultatima meta-analize Internacionalne radne skupine za suho oko prevalencija bolesti suhog oka dijagnosticirana na osnovi kliničkih znakova se kretala u rasponu od 5,8 do 85,6 % (3). Zašto je tomu tako? Mogući razlozi značajnijih varijacija među različitim istraživanjima su nepostojanje ujednačenih dijagnostičkih kriterija u smislu provođenja i tumačenja pojedinih testova te općenito nepostojanje dogovora oko graničnih vrijednosti određenih testova funkcije, stabilnosti i proizvodnje suza. Uostalom, složenost patofiziologije i kliničke prezentacije disfunkcije suznog filma pretpostavlja poteškoće u procesu dijagnostike i detekcije znakova disfunkcije suznog filma. Očita heterogenost u karakteristikama disfunkcije suznog filma te nepostojanje globalno prihvaćenog sigurnog dijagnostičkog znaka je razlog i heterogenosti preporuka različitih stručnih skupina kako je već i navedeno u uvodu. Nadalje, to je i razlog postojanja nekonzistentnosti između simptoma i znakova disfunkcije suznog filma. Osim toga, ključno je naglasiti i utjecaj intrinzičnih faktora poput dobi i spola što je detaljno objašnjeno u poglavlju o demografskim karakteristikama ispitanika. Stoga je pri tumačenju rezultata kliničkih testova disfunkcije suznog filma potrebno razmotriti utjecaj spola i dobi. Štoviše, nekoliko je istraživanja dokazalo značajnu povezanost starije životne dobi i viših rezultata testova kliničkih znakova disfunkcije suznog filma (38, 39, 322). S druge strane ostaje nejasno na koji način bi se granične vrijednosti kliničkih testova trebale korigirati s obzirom na dob. Za razliku od simptoma, povezanost spola i objektivnih znakova disfunkcije suznog filma je i dalje u domeni kontroverznosti. Borrelli i sur. nisu dokazali spolne razlike kod većine ispitivanih znakova disfunkcije suznog filma kada se kao dodatni faktor analizirala dob (323). I kao ključno pitanje na kraju ostaje dilema, što je uopće normalno? Pokazano je da određeni dio populacije zdravih ljudi može imati patološke vrijednosti testova poput TBUT-a i Schirmer testa, a bez prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma ili drugih znakova poremećaja očne površine (324, 325). S obzirom da svaki test mjeri određene, ali ne i sve aspekte poremećaja funkcije, stabilnosti ili proizvodnje suznog filma, te da je korelacija među testovima kao i

simptomima i kliničkim znacima disfunkcije suznog filma slaba, te često i inkonzistentna, jasno je kako značajan udio asimptomatskih bolesnika ostaje nedijagnosticiran.

6.4.1. HIPEREMIJA SPOJNICE (ENG. *CORNEA AND CONTACT LENS RESEARCH UNIT; CCLRU*)

U ovom istraživanju utvrđena je statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima hiperemije spojnice oba oka među ispitivanim dobnim skupinama kao i među ženama između skupina ($p=0,011$). Iako su žene unutar skupina imala izraženiju hiperemiju spojnice u odnosu na muškarce, ta razlika ni u starijoj dobnj skupini nije bila značajna. Stoga su starija životna dob i ženski spol u ovom istraživanju bili značajno povezani sa višim vrijednostima procjene hiperemije spojnice. S obzirom da je hiperemija spojnice nespecifičan znak koji može ukazivati i na druga stanja te bolesti oka i očne površine, pozitivan rezultat slabije korelira s disfunkcijom suznog filma. S druge strane, utjecaj dobi se može objasniti s dobi povezanim slabljenjem tonusa mišićnog sloja stijenke arterola spojnice. Nadalje, s dobi povezan povećan laksitet vjeđa te pojava konjunktivohalaze također mogu biti potencijalni uzročnici izraženije hiperemije spojnice u starijoj životnoj dobi (81, 326). Rico-del-Viejo i sur. te Yeotikar i sur. su također pronašli značajnu povezanost dobi i hiperemije spojnice (327, 328). Druga istraživanja su suprotno ovome, utvrdila značajniju hiperemiju spojnice kod muškaraca (323, 329). S obzirom na nisku specifičnost i osjetljivost u dijagnostici disfunkcije suznog filma, opisani rezultati procjene hiperemije se mogu promatrati u kontekstu subjektivnog opažanja unutar zdrave populacije koji nemaju značajniju vrijednost u rutinskom kliničkom radu u području disfunkcije suznog filma. Utjecaj spola na izraženost hiperemije u suštini nema objašnjenja.

6.4.2. NEINVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA (ENG. *NON-INVASIVE TEAR BREAK-UP TIME; NIBUT*)

Srednja vrijednost svih 6 mjerenja NIBUT-a oba oka je bila značajno nižih vrijednosti kod ispitanika starije životne dobi u odnosu na mlađu dobnju skupinu ($19,35 \pm 13,07$ vs $23,82 \pm 20,04$), a kretale su se u rasponima od 2 do 45 sekundi u starijoj dobnj skupini, te 2 do 77 sekundi u skupini ispitanika mlađe životne dobi. Ta je razlika također bila uočljiva kod oba spola između dobnih skupina, ali ne i unutar skupina ($p=0,008$; $p=0,022$). Stoga je u ovom istraživanju dob bila visoko značajno povezana

s nižim vrijednostima NIBUT-a. S druge strane, značajnih razlika između spolova nije bilo ($p > 0,05$). Muškarci starije životne dobi su imali najkraće, a muškarci mlađe životne dobi najduže vrijednosti NIBUT-a. Nekoliko istraživanja je također pronašlo značajnu negativnu korelaciju dobi i NIBUT-a (72, 330 - 332). Među navedenima dva su istraživanja dokazali značajne razlike među spolovima i to visoko značajno kod žena sa sinergističkim učinkom s dobi, a ostali kao i ovo istraživanje nisu pronašli značajnih razlika između spolova (72, 332). Nekolicina drugih istraživanja koji nisu pronašli korelacije s dobi su u istraživačkom uzorku imali isključivo ispitanike mlađe dobne skupine do 40 godina (333, 334). No, na koji način dob utječe na stabilnost suznog filma? Nekoliko je mogućih razloga. Djelomično objašnjenje je već opisano u poglavlju o demografskim karakteristikama ispitanika te povezanosti dobi i disfunkcije suznog filma. Poznato je da su debljina, kvaliteta, integritet te širenje lipidnog sloja suza narušeni kod obje predominantne, ali ne i isključive etiološke forme disfunkcije suznog filma s jednakim patofiziološkim značajkama u vidu pojačane evaporacije i razvoja hiperosmolarnosti suznog filma, a što je detaljno objašnjeno u uvodu (5). Osim toga, dob je jedan od faktora rizika razvoja disfunkcije Meibomovih žlijezdi. Nadalje, starenje karakteriziraju brojne histopatološke promjene Meibomovih žlijezdi poput atrofije acinarnih epitelnih stanica, smanjene proizvodnje lipida meibuma, smanjene diferencijacije i regeneracije meibocita te u konačnici smanjena broja i volumena žlijezdi (23, 25, 26). Uz to značajne su i već opisane promjene suzne žlijezde te s dobi povezano smanjenje volumena suza kao i povećani laksitet vjeđa. Vrlo često je s dobi povezana i pojava konjunktivohalaze koja može dovesti do opstrukcije punktuma. I na kraju, s dobi povezane promjene imunološkog sustava u smislu smanjenja broja T limfocita, kronične upale, autoimunosti i povećanja proizvodnje proupalnih citokina što u konačnici dovodi do patoloških promjena struktura očne površine i suzne žlijezde (284, 285). Sve navedeno uzrokuje promjene integriteta suznog filma te promjene u biofizičkim i fiziološkim svojstvima lipidnog sloja s posljedičnom disfunkcijom lipidnog sloja suznog filma. Stoga se starija životna dob povezuje s višom stopom evaporacije, kraćim vremenom pucanja suznog filma i u konačnici tanjim lipidnim slojem suza (332). Zaključno, rezultati ovog istraživanja potvrđuju tezu o povezanosti dobi i promjena u dinamici suznog filma u smislu smanjenja stabilnosti suza. Time se nameće ključno pitanje o potrebi prilagodbe graničnih vrijednosti NIBUT-a sukladno dobi. Iako pitanje osjetljivosti graničnih vrijednosti i dobnih varijacija ostaje otvoreno za daljnja istraživanja, Internacionalna radna skupina za suho oko je u svom metodološkom i

dijagnostičkom izvještaju razmatrala mogućnost prilagodbe graničnih vrijednosti za ± 2 standardne devijacije od srednjih vrijednosti (19). S druge strane, ponovljivost NIBUT-a je u ovom istraživanju bila izvrsna jer nije bilo značajnih varijacija između mjerenja na oba oka neovisno o dobi, spolu te prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. Stoga se može zaključiti da se već i jedno mjerenje na jednom oku može smatrati pouzdanim i mjerodavnim rezultatom u procjeni funkcije i stabilnosti suznog filma. U usporedbi s ostalim dijagnostičkim testovima disfunkcije suznog filma, NIBUT je pokazao najsnažniju povezanost sa životnom dobi ispitanika i to visoko značajnu negativnu povezanost u smislu kraćih vrijednosti NIBUT-a kod ispitanika starije životne dobi, te dužih vrijednosti kod ispitanika mlađe životne dobi. To znači da je varijabilnost vrijednosti NIBUT-a prema dobi u ovom istraživanju bila visoko značajna u obje skupine ispitanika. Iz toga proizlazi da je NIBUT uspješno detektirao ispitanike s narušenom funkcijom suznog filma neovisno o prisutnosti simptoma i to samo prema aspektu dobi što dodatno potvrđuje već spomenutu tezu o potrebi prilagodbe graničnih vrijednosti sukladno životnoj dobi.

6.4.3. EKSPRESIJA MEIBOMOVIH ŽLIJEZDI

Rezultati ovog istraživanja ne pokazuju značajnu razliku u količini sekreta na lijevom oku između dobnih skupina, dok je s druge strane u starijoj dobnj skupini izgled sekreta bio češće promijenjen što ukazuje na praktičnost ovog testa u smislu brze i jednostavne procjene strukture i sekretorne funkcije Meibomovih žlijezdi kao i indirektne procjene sastava i kvalitete lipidnog sloja suznog filma. S obzirom da su rezultati procjene stabilnosti suznog filma invazivnim i neinvazivnim testom vremena pucanja suznog filma u ovom istraživanju pokazali kraće vrijednosti u starijoj dobnj skupini, može se zaključiti da je test ekspresije Meibomovih žlijezdi na jednom oku uspješno detektirao ispitanike sa promijenjenim/disfunkcionalnim lipidnim slojem suza i posljedičnom smanjenom stabilnošću suznog filma. Nadalje, u ovom istraživanju se željelo ispitati postoji li utjecaj ekspresije Meibomovih žlijezdi lijevog oka prije mjerenja TBUT-a na konačne rezultate mjerenja, kao i utvrditi postoji li značajna razlika prema istim vrijednostima na desnom oku. S obzirom da rezultati ovog istraživanja nisu pronašli značajnih razlika u količini sekreta između dobnih skupina, tako niti razlike između tri mjerenja TBUT-a desnog i lijevog oka unutar ispitivanih skupina nisu bile značajne. No, bilo bi zanimljivo ispitati utjecaj ekspresije Meibomovih žlijezdi na mjerenje TBUT-a u ispitanika sa dijagnosticiranom disfunkcijom Meibomovih žlijezdi.

6.5. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA SA SUBJEKTIVNIM SIMPTOMIMA I KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

Različiti poremećaji i patološka stanja građe i funkcije vjeđa te vjeđnog rasporka u smislu promijenjene dinamike i kongruentnosti vjeđa mogu doprinijeti razvoju hiperosmolarnosti očne površine kao ključnog patofiziološkog faktora u kaskadnom ciklusu niza upalnih događaja i začaranoga kruga bolesti suhog oka. S obzirom da hiperosmolarnost suza i očne površine nastaju isključivo kao posljedica evaporacije te da bez evaporacije nema ni hiperosmolarnosti, svaka etiološka forma bolesti suhog oka u suštini ima i evaporativnu komponentu. Stoga, pojam hiperevaporativnog suhog oka kao isključivog etiološkog i klasifikacijskog oblika bolesti suhog oka zapravo nije sasvim točan i koristi se isključivo iz povijesnih razloga i jednostavnosti takve klasifikacije te naglašavanja primarne organske etiologije bolesti suhog oka koja naknadno može preći u sekundarni funkcijski oblik i hibridnu formu (1). Osim toga, pojam hiperevaporativnog suhog oka u svojoj biti ukazuje na patofiziološku ulogu pojačane i ekscesivne evaporacije u razvoju disfunkcije suznog filma. Nadalje, pojam hiperevaporacija označava abnormalno povećanje stope evaporacije prema jedinici područja očne površine, a koja je mjerena u uvjetima standardnih vrijednosti prostorne vlažnosti, temperature i strujanja zraka te spontanog treptanja ispitanika (5). Prema tome, oksidativni stres kojeg uzrokuje direktni kontakt sa ambijentalnim i vanjskim okolišem, zagađenjima i izloženošću UV-zračenju je potentni i kontinuirani čimbenik rizika za pojavu oštećenja očne površine, ali i lipidne frakcije suznog filma (26). Svi navedeni vanjski čimbenici su poznati i opisani faktori koji dovode do hiperosmolarnosti suza i očne površine. No, što je sa intrizičnim osobnim faktorima poput frekvencije spontanog treptanja, učestalosti nepotpunog treptanja i širine vjeđnog rasporka kod zdravih pojedinaca? Read i sur. su dokazali suženje vjeđnog rasporka pri vertikalnom položaju oka u nagibu 40 stupnjeva prema dolje u odnosu na primarni položaj oka ($6,4 \pm 1,1$ mm vs. $9,7 \pm 1,2$ mm) (337). Nakamori i sur. su pak mjereći frekvenciju spontanog treptanja u primarnom položaju oka te vertikalnim položajima prema gore i dolje, dokazali povećanje frekvencije treptanja sukladno povećanim vrijednostima širine vjeđnog rasporka u položaju oka prema gore te smanjenje frekvencije treptanja u položaju oka prema dolje. Prema tome, frekvencija treptanja se povećala sukladno

suznog filma i/ili smanjenje kvalitete i integriteta svih slojeva. Drugim riječima, vertikalne dimenzije vjeđnog rasporka u različitim smjerovima pogleda i posljedično različite dimenzije očne površine izložene različitim vanjskim ambijentalnim i/ili okolišnim uvjetima imaju očito važan utjecaj na integritet i funkciju suznog filma, a koji u potencijalnom međudjelovanju u svakodnevnom životu kod zdravih ispitanika mogu doprinijeti razvoju hiperosmolarnosti suza i očne površine te u konačnici, i razvoju disfunkcije suznog filma. Kada se govori o aspektu izložene površine oka te širine vjeđnog rasporka u problematici disfunkcije suznog filma, onda je ta korelacija pretežito svedena na istraživanja iz područja distiroidne orbitopatije. Prevalencija bolesti suhog oka kod tih se bolesnika kreće u rasponu od 23 do čak 96 % (342, 343). Iako je povezanost između bolesti i poremećaja rada štitnjače te kliničkih manifestacija na oku nedvojbeno dokazana, još uvijek nije sasvim jasna patofiziološka podloga disfunkcije suznog filma. Jedan od predloženih mehanizama je pojačana evaporacija zbog mehaničkih faktora poput egzoftalmusa, proptoze i retrakcije gornje vjeđe. Prema tome, širina vjeđnog rasporka je prepoznata kao značajan faktor rizika za oštećenje površine oka kod bolesnika s distiroidnom orbitopatijom (344, 345). Povećanje širine vjeđnog rasporka kod tih bolesnika pozitivno korelira s povećanom evaporacijom i hiperosmolarnošću suznog filma, izraženijim simptomima disfunkcije suznog filma te značajno nižim vrijednostima TBUT-a u odnosu na zdrave ispitanike (346, 347). S obzirom da širina vjeđnog rasporka pozitivno korelira s izloženom površinom oka te da je veća izloženost oka vanjskim uvjetima faktor koji ubrzava evaporaciju i negativno utječe na stabilnost suznog filma, može se pretpostaviti da je i kod zdravih ispitanika isti patofiziološki koncept utjecaja na stabilnost suznog filma. Pansell i sur. su istraživali utjecaj promjene širine vjeđnog rasporka u različitim vertikalnim smjerovima pogleda i eksponirane očne površine na stabilnost suznog filma, i to samo mjereći TBUT kod 23 zdrava ispitanika mlađe životne dobi. Kraće vrijednosti TBUT-a utvrđene su kod veće širine vjeđnog rasporka pri pogledu gore, a duže vrijednosti kod manje širine vjeđnog rasporka pri pogledu dolje. Nadalje, razlike u vrijednostima TBUT-a su bile statistički značajne između sva 3 mjerena položaja oka (348). S druge strane, Cho i sur. nisu pronašli značajnu povezanost širine vjeđnog rasporka i TBUT-a mjerenih u primarnom položaju oka s prirodno otvorenim očima i forsiranim otvaranjem čime su se vrijednosti širine vjeđnog rasporka povećale, iako je postojala tendencija nižih vrijednosti TBUT-a s povećanjem otvorenosti oka (263, 349). Time se može zaključiti da kratkotrajno i trenutno širenje vjeđnog rasporka očito nema značajnog utjecaja na stabilnost suznog

na muškarce iste te žene i muškarce starije životne dobi, te sukladno tome i najveću izloženu površinu podložnu evaporaciji i oštećenjima struktura očne površine, može se zaključiti kako širina vjeđnog rasporka kao osobni i intrizični faktor može biti indikator i prediktor disfunkcije suznog filma. No, može li biti pouzdan i nedvojbena indikator i prediktor disfunkcije suznog filma? Čini se da usprkos dokazanoj pozitivnoj korelaciji širine vjeđnog rasporka i izraženosti simptoma disfunkcije suznog filma kod mlađih žena, ipak ne može uspješno detektirati sve ispitanike sa disfunkcijom suznog filma. Osim toga, kod žena starije životne dobi je utvrđena značajno negativna povezanost s osjećajem teškog otvaranja očiju ujutro. Drugim riječima, žene starije životne dobi sa manjim vrijednostima širine vjeđnog rasporka su imale izraženiji osjećaj teškog otvaranja očiju ujutro koji je kao simptom indikativan za deficijenciju lipidne frakcije suznog filma i pretežito evaporativnu komponentu disfunkcije suznog filma (351). S obzirom da su simptomi disfunkcije suznog filma učestaliji kod žena i da je životna dob uz ženski spol sinergistički faktor rizika za razvoj disfunkcije suznog filma (3), te da vrijednosti širine vjeđnog rasporka s dobi postaju uže (301) i time manje izložene naporima evaporacije, kao dodatna i antagonistička teza se nameće mogućnost razmišljanja o širini vjeđnog rasporka kao zaštitnog faktora u starijoj životnoj dobi sukladno prirodnim involutivnim promjenama vjeđa i vjeđnog rasporka. Prevalencija disfunkcije suznog filma te rasprava o aspektu dobi i spola je detaljno objašnjena u poglavlju o demografskim karakteristikama ispitanika. Govoreći o prevalenciji simptomatske bolesti suhog oka na primjeru europskih istraživanja, važno je spomenuti Salnes studiju provedenu u Španjolskoj, a koja je pokazala da je prevalencija prisutnosti tek jednog od 6 simptoma bolesti suhog oka čak 70% veća kod žena u odnosu na muškarce (30). Također, francuska studija Alienor je na uzorku 915 starijih ispitanika pokazala 60 % veću prevalenciju simptomatske bolesti suhog oka kao i korištenje umjetnih suza među ženama (32). Veća učestalost simptoma teškog otvaranja očiju ujutro kod starijih žena u ovom istraživanju se može objasniti faktorima koji su već navedeni u raspravi u poglavlju o dobu, spolu te demografskim karakteristikama ispitanika. Osim toga, involutivne promjene vjeđa u smislu povećanog laksiteta sa ili bez pridruženog ektropijuma mogu imati utjecati na kvalitetu suznog filma zbog slabije homogenosti komponenata suza (352). S obzirom da su u ovom istraživanju žene starije životne dobi imale statistički značajno češće promijenjen izgled sekreta Meibomovih žlijezdi nego žene mlađe dobi i muškarci starije životne dobi, te da je dob uostalom faktor koji doprinosi strukturalnim i funkcijskim promjenama

Meibomovih žlijezdi kod zdravih ljudi kao i kod bolesnika sa disfunkcijom Meibomovih žlijezdi (328, 353, 354), izraženija prisutnost subjektivnih simptoma kod starijih žena ide u prilog tezi povezanosti subjektivnih simptoma i kliničkih znakova. Štoviše, Suzuki i sur. su otkrili da starenje kao i disfunkcija Meibomovih žlijezdi utječu na promjene u sastavu i omjeru glavnih lipidnih komponenti meibuma te sukladno tome i na kliničku prezentaciju i pojavu subjektivnih simptoma (353). Suprotno tome, Yeotikar i sur. nisu pronašli povezanost subjektivnih simptoma i kliničkih znakova disfunkcije Meibomovih žlijezdi, kao niti značajne promjene lipidnog profila suza u odnosu na dob ili spol. S druge strane, kod zdravih i asimptomatskih ispitanika utvrđene su značajne strukturne i funkcijske promjene Meibomovih žlijezdi sa starenjem. Nepostojanje spolnih razlika je objašnjeno činjenicom da su i žene i muškarci izloženi deficijenciji androgenih hormona s dobi (328). Prema tome, aspekt dobi je ključan čimbenik u razmatranju strukturnih, funkcijskih i fizioloških promjena svih struktura funkcionalne lakrimalne jedinice, pa tako i širine vjeđnog rasporka koju u kontekstu svakodnevne kliničke prakse, ali i nakon plastično-rekonstruktivnih zahvata na vjeđama i orbiti, očito trebamo promatrati kao osobnog faktora koji može doprinijeti većoj izloženosti oka i razvoju simptoma disfunkcije suznog filma.

Ovim istraživanjem utvrđena je značajna pozitivna povezanost širine vjeđnog rasporka i inteziteta simptoma disfunkcije suznog filma kod žena mlađe životne dobi, te značajna negativna povezanost širine vjeđnog rasporka s osjećajem teškog otvaranja očiju ujutro kod žena starije životne dobi. Stoga se može zaključiti da postoji pozitivna povezanost širine vjeđnog rasporka i simptoma disfunkcije suznog filma kod zdravih pojedinaca, čak i u smislu izraženosti simptoma što dodatno potkrepljuje činjenicu o važnosti segmenta pojačane evaporacije u svakodnevnim životnim situacijama. Osim toga, mjerenje širine vjeđnog rasporka plastičnim nesavjetljivim ravnalom u rutinskoj kliničkoj praksi se pokazala kao metoda koja je uspješno detektirala ispitanike sa subjektivnim simptomima u mlađoj životnoj skupini. Uzimajući u obzir aspekt dobi, autor smatra da bi značajnijim povećanjem uzorka, vrijednosti širine vjeđnog rasporka uspješno detektirale sve ispitanike sa disfunkcijom suznog filma. Ipak, ta bi teza i u kontekstu pozitivne korelacije neovisno o dobi bila prihvatljivija na eksperimentalnoj razini te se za sada može promatrati u domeni istraživačkog cilja u budućnosti. Osim toga, rezultati ovog istraživanja su nametnuli i dodatnu tezu o širini vjeđnog rasporka kao mogućeg zaštitnog mehanizma u starijoj životnoj dobi sukladno

prirodnim involutivnim promjenama vjeđa i vjeđnog rasporka. Nadalje, općeniti je dojam autora da su žene u ovom istraživanju izraženije i više opisivale svoje tegobe u odnosu na muškarce. Stoga aspekt spola u kontekstu povezanosti širine vjeđnog rasporka i prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma treba promatrati u smislu tendencije.

6.5.2. POVEZANOST ŠIRINE VJEĐNOG RASPORKA S KLINIČKIM ZNAKOVIMA DISFUNKCIJE SUZNOG FILMA

U ovom istraživanju svi su se klinički znakovi disfunkcije suznog filma značajno razlikovali među skupinama ispitanika sa i bez prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. To znači da su svi klinički znakovi uspješno razlikovali ispitanike sa prisutnim smetnjama koji se vezuju uz narušenu funkciju suznog filma i one bez prisutnosti istih. Najznačajniju povezanost kliničkih znakova i subjektivnih simptoma pokazali su NIBUT i TBUT. Taj podatak ne začuđuje s obzirom da obje metode ukazuju na isti patofiziološki fenomen, a to je trenutak destabilizacije i pucanja suznog filma. Nadalje, isti su klinički znakovi uspješno razlikovali i skupine ispitanika prema životnoj dobi što ukazuje na važnost promatranja segmenta stabilnosti suznog filma kao s dobi povezane, no ne i s dobi uzrokovane varijable. Rezultati ovog istraživanja utvrdili su da postoji pozitivna povezanost širine vjeđnog rasporka i prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. No, kakva je povezanost širine vjeđnog rasporka sa ispitivanim kliničkim znakovima disfunkcije suznog filma?

Hiperemija spojnice

Hiperemija spojnice bila je kod svih ispitanika uključenih u ovo istraživanje značajno negativno povezana sa širinom vjeđnog rasporka kao i značajno negativno sa simptomima disfunkcije suznog filma. To znači da su ispitanici sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka imali manje izraženu hiperemiju spojnice te da je ista korelacija utvrđena i kod ispitanika sa prisutnim smetnjama bolesti suhog oka. Varijabilnost prisutnosti i izraženosti hiperemije spojnice te širine vjeđnog rasporka prema dobi i spolu je utvrđena samo kod mlađih žena i to u istom negativnom trendu što dodatno potvrđuje nespecifičnost tog kliničkog znaka u dijagnostici i procjeni disfunkcije suznog filma u svakodnevnoj kliničkoj praksi. S druge strane, ovim je

istraživanjem utvrđena značajna povezanost hiperemije spojnice i životne dobi. Prema tome, sa aspekta svakodnevne kliničke prakse ovaj se klinički znak može smatrati slabije pouzdanim i mjerodavnim u procjeni funkcije suznog filma s obzirom na širinu i raznovrsnost diferencijalno-dijagnostičkih mogućnosti kod zdravih pojedinaca. Sve navedene korelacije se stoga mogu promatrati kao opazajne jer klinički disfunkcija suznog filma očito nije značajno povezana s bulbarnim crvenilom. Ili drugim riječima, izloženost i otvorenost oka vanjskim uvjetima kao i prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma ne dovode do izraženije hiperemije spojnice oka.

NIBUT

U ovom je istraživanju pronađena statistički značajna, no slaba negativna povezanost NIBUT-a i širine vjeđnog rasporka u obje dobne skupine. Ta je korelacija bila osobito naglašena u mlađoj dobnoj skupini kod oba spola. Životna je dob prema tome značajno razlikovala skupine ispitanika. Ispitanici sa većom širinom vjeđnog rasporka su imali prosječno kraće vrijednosti NIBUT-a, i to u obje dobne skupine. S druge strane, unutar skupine ispitanika sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma, značajna negativna povezanost utvrđena je samo kod mlađih žena. Prema tome, dobivena varijabilnost vrijednosti širine vjeđnog rasporka i NIBUT-a bila je manje u funkciji prisutnosti simptoma, a više u domeni dobi. Mogući razlog dobivene korelacije je u veličini uzorka istraživanja, a što se prvenstveno odnosi na udio ispitanika sa prisutnim simptomima kao i u kriterijima uključenosti u skupine. Prisutnost i samo jednog simptoma označavao je pozitivan kriterij za uvrštavanje u skupinu ispitanika sa simptomima što u konačnici s obzirom na ukupan broj ispitanika možda nije bio dovoljan kriterij za objektivniju procjenu utjecaja simptoma na korelaciju širine vjeđnog rasporka i ispitivanih kliničkih znakova. No, dobivena korelacija i homogenost rezultata između obje dobne skupine jasno upućuju na negativan utjecaj širine vjeđnog rasporka u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed i posljedično veće otvorenosti oka, na stabilnost suznog filma izraženu u smislu kraćih vrijednosti testa koji je tu narušenu funkciju suza prikazao u nativnom obliku.

Zaključno, NIBUT je za razliku od simptoma značajnije utjecao na dobivenu negativnu korelaciju širine vjeđnog rasporka i stabilnosti suznog filma neovisno o dobno i spolno uvjetovanim promjenama vjeđa i vjeđnog rasporka. S obzirom da je navedena korelacija bila izraženija u mlađoj dobnoj skupini, može se pretpostaviti da

involutivne promjene vjeđa mogu imati i zaštitni mehanizam u smislu smanjenja dodatne evaporacije i isušivanja oka u starijoj životnoj dobi. Nadalje, ovaj je klinički znak uspješno detektirao ispitanike sa simptomima i najvećim vrijednostima širine vjeđnog rasporka, a to su u ovom istraživanju bile žene mlađe životne dobi. Autor smatra da bi povećanjem uzorka simptomatskih ispitanika i drugačijom metodologijom koja bi se zasnivala na intezitetu, a ne prisutnosti jednog simptoma, dobila značajnija korelacija NIBUT-a i širine vjeđnog rasporka u skupini ispitanika sa prisutnim smetnjama i narušenom funkcijom suznog filma.

Ekspresija Meibomovih žlijezdi

Količina sekreta dobivena ekspresijom Meibomovih žlijezdi donje vjeđe bila je značajno negativno povezana sa vrijednostima širine vjeđnog rasporka u ispitanika mlađe životne dobi. To znači da su ispitanici sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka imali značajno veću količinu sekreta Meibomovih žlijezdi. Nadalje, izgled sekreta Meibomovih žlijezdi bio je značajno negativno povezan sa širinom vjeđnog rasporka u svih ispitanika uključenih u istraživanje kao i u onih starije životne dobi. Drugim riječima, ispitanici sa manjim vrijednostima širine vjeđnog rasporka imali su promijenjen izgled sekreta Meibomovih žlijezdi kao i ispitanici starije životne dobi. Životna je dob poznati faktor rizika za razvoj strukturnih i/ili funkcijskih promjena Meibomovih žlijezdi (23). Hom i sur. su pronašli značajno smanjenje količine sekreta kao i zamućen izgled sekreta sa povećanjem životne dobi. Postotak ispitanika sa opisanim promjenama Meibomovih žlijezdi bio je 40 % među 398 zdravih ispitanika (355). Osim toga broj aktivnih žlijezdi linearno opada s dobi (354). Stoga se može zaključiti da su dobivene korelacije u ovom istraživanju prvenstveno s dobi povezane i da su upravo životna dob i izgled sekreta Meibomovih žlijezdi u skupini ispitanika starije životne dobi najviše utjecale na značajnost rezultata. Kontradiktorno, prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma nije utjecala na varijabilnost rezultata. Širina vjeđnog rasporka u skupini ispitanika sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma bila je značajno negativno povezana s količinom i izgledom sekreta Meibomovih žlijezdi. To upućuje da su ispitanici sa prisutnim smetnjama suhog oka i većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka imali veću ekspresiju žlijezdi te bistar izgled sekreta. S obzirom da se ispitanici u skupini sa prisutnim simptomima nisu značajno razlikovali prema životnoj dobi i spolu, može se zaključiti da su korelacije širine vjeđnog

rasporka, simptoma i ekspresije Meibomovih žlijezdi neujednačene i da je povezanost u ovom istraživanju bila prije svega u aspektu životne dobi.

TBUT

Rezultati ovog istraživanja utvrdili su značajnu negativnu povezanost širine vjeđnog rasporka i TBUT-a u obje dobne skupine. Ta je varijabilnost bila više izražena u mlađih muškaraca i žena ($p = 0,004$; $p < 0,001$), slabije u starijih muškaraca ($p = 0,015$), a u starijih žena je nije bilo. Ispitanici sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka su imali značajno kraće vrijednosti TBUT-a u obje dobne skupine. Stoga je TBUT kao i NIBUT značajno razlikovao ispitanike sa širim vjeđnim rasporkom i posljedičnom većom izloženošću oka neovisno o životnoj dobi i dokazanom smanjenom stabilnošću suznog filma s dobi. S obzirom da je mjerenje širine vjeđnog rasporka i neizravno procjena izloženosti i otvorenosti očne površine vanjskim uvjetima u domeni utjecaja na funkciju i stabilnost suznog filma, značajna negativna povezanost širine vjeđnog rasporka i TBUT-a neovisno o dobi dodatno potkrepljuje tezu o povezanosti i utjecaju evaporacije na stabilnost suznog filma kod zdravih pojedinaca u svakodnevnom životu i to u položaju oka kojim je obuhvaćen najširi spektar svakodnevnih aktivnosti, a to je primarni položaj oka pri pogledu ravno naprijed. Za razliku od NIBUT-a, u skupini ispitanika sa simptomima nije utvrđena značajna povezanost TBUT-a i širine vjeđnog rasporka niti u jednoj dobnoj skupini. Nekonzistentnost simptoma i znakova su uz već opisane metodološke kriterije, mogući razlog nepovezanost ispitivanih varijabli u ovom istraživanju. Isto tako, može se zaključiti kako su TBUT i NIBUT kao klinički znakovi pokazali veću konzistentnost rezultata u odnosu na procjenu simptoma disfunkcije suznog filma. Nadalje, mjerenje širine vjeđnog rasporka u svakodnevnoj kliničkoj praksi uz ostale dijagnostičke testove u procjeni funkcije suznog filma može biti dodatan i pouzdan indikator i prediktor disfunkcije suznog filma neovisno o životnoj dobi.

Bojenje rožnice fluoresceinom

Pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom, graduiran NEI skalom, bio je značajno pozitivno povezan sa simptomima disfunkcije suznog filma i sa širinom vjeđnog rasporka. Skupina ispitanika sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma i većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka, imala je značajno češće pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom. Iako nespecifičan i smanjene osjetljivosti u klinički

slabije izraženim oblicima disfunkcije suznog filma, ovaj je klinički znak uspješno detektirao ispitanike sa simptomima disfunkcije suznog filma i širim vjeđnim rasporkom.

LIPCOF

Utvrđena je granično značajna slaba pozitivna povezanost između širine vjeđnog rasporka i vrijednosti LIPCOF-a u skupini ispitanika mlađe životne dobi. Povezanosti istih u skupini ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma nije bilo. To upućuje da su ispitanici mlađe životne dobi sa širim vjeđnim rasporkom imali veće vrijednosti LIPCOF-a neovisno o prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. Iako nije utvrđena značajna povezanost sa simptomima, dobivena korelacija potvrđuje da je ovaj klinički znak detektirao onu skupinu ispitanika s najvećim vrijednostima širine vjeđnog rasporka i time uz ostale ispitivane znakove potvrdio povezanost izloženosti očne površine i disfunkcije suznog filma kod zdravih ispitanika.

U ovom su se istraživanju svi ispitivani klinički znakovi značajno razlikovali među skupinama ispitanika sa i bez prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. Također, kod svih je, osim pri evaluaciji LIPCOF-a i bojenja rožnice fluoresceinom utvrđena značajna povezanost sa životnom dobi. Osim toga, širina vjeđnog rasporka bila je značajno povezana sa svim kliničkim znakovima osim hiperemije spojnice i ekspresije Meibomovih žlijezdi. Drugim riječima, svi su ostali klinički znakovi uspješno detektirali ispitanike sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka. Najznačajniju povezanost širine vjeđnog rasporka i pojedinog kliničkog znaka disfunkcije suznog filma, kao i najveću homogenost rezultata pokazali su TBUT i NIBUT, i to u obje dobne skupine neovisno o prisutnosti simptoma disfunkcije suznog filma. To samo dodatno potkrepljuje činjenicu o utjecaju površine oka na stabilnost i funkciju suznog filma kod zdravih pojedinaca. Nadalje, jedino je pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom bio značajno češće pozitivan u skupini ispitanika sa simptomima i najvećim vrijednostima širine vjeđnog rasporka, neovisno o dobi i spolu.

6.6. LOGISTIČKA REGRESIJA

Jačina i neovisnost povezanosti širine vjeđnog rasporka i ispitivanih parametara disfunkcije suznog filma, kao i pojedinih parametara sa prisutnošću disfunkcije suznog filma, analizirani su logističkom regresijom. Logistička regresija je pokazala da u ovom istraživanju nije bilo povezanosti između životne dobi i disfunkcije suznog filma (OR=1,01) kao niti utjecaja spola na prisutnost iste (OR=1,00) ($p > 0,05$). Iako je u prvom dijelu statističke analize dokazana pozitivna, ali neujednačena korelacija dobi i kliničkih znakova te povezanost u smislu tendencije izraženosti simptoma disfunkcije suznog filma i ženskog spola i dobi, logističkom regresijom kao glavnom analitičkom metodom za utvrđivanje rizika (prediktora) nekog stanja nije utvrđen utjecaj životne dobi i spola na prisutnost disfunkcije suznog filma. Izostanak utjecaja navedenih varijabli na pojavnost disfunkcije suznog filma se prije svega može objasniti dizajnom istraživanja koji je zahtijevao uključivanje jednakog broja ispitanika u dvije dobne skupine unutar kojih je također trebao biti jednaki broj ispitanika oba spola i jednaki broj ispitanika sa i bez simptoma disfunkcije suznog filma. Time je isključen utjecaj životne dobi i spola te mogućnost standardizacije uzorka prema dobi i spolu.

Provedena jednostruka (univarijatna) logistička regresija je pokazala tendenciju utjecaja širine vjeđnog rasporka kao rizika za razvoj disfunkcije suznog filma. Stoga je moguće pretpostaviti da bi povećanje uzorka ispitanika u istraživanju i njihova nasumična ili drugačija raspodjela možda pokazala da li je ova opažena tendencija utjecaja širine vjeđnog rasporka statistički značajna.

Glavni prediktori i indikatori disfunkcije suznog filma u ovom su istraživanju bili izraženost simptoma te svi ispitivani klinički znakovi. To znači da su izraženiji simptomi disfunkcije suznog filma te izraženija hiperemija spojnice, manja količina i promijenjen izgled sekreta Meibomovih žlijezdi, više vrijednosti LIPCOF-a te kraće vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a pokazali značajnu povezanost s rizikom za prisutnost disfunkcije suznog filma. Pri tomu je važno naglasiti da je jačina povezanosti navedenih kliničkih znakova i disfunkcije suznog filma bila najviše izražena kod hiperemije spojnice, LIPCOF-a i TBUT-a. Stoga se može zaključiti da su izraženija hiperemija spojnice, viši LIPCOF i kraći TBUT u ovom istraživanju bili najbolji prediktori i indikatori za prisutnost i razvoj disfunkcije suznog filma. Širina vjeđnog rasporka se s druge strane pokazala

kao mogući indikator, ali i prediktor razvoja pretežito evaporativne komponentne disfunkcije suznog filma u zdravih pojedinaca neovisno o dobi i spolu što bi moglo biti korisno u svakodnevnoj kliničkoj praksi i rutinskoj dijagnostici bolesti suhog oka, ali i važan segment u praćenju postoperativnih rezultata u području orbite i periokularne regije.

6.7. OGRANIČENJA ISTRAŽIVANJA

Među ograničenjima ovog istraživanja treba istaknuti da je ovo istraživanje jedno od prvih koje je ispitivalo utjecaj i povezanost širine vjeđnog rasporka sa simptomima i kliničkim znakovima disfunkcije suznog filma kod zdravih osoba te stoga u literaturi još uvijek nema dovoljno opisanih metodologija, iskustava, sličnih rezultata i korisnih rasprava. Do sada učinjena istraživanja iz područja disfunkcije suznog filma te aspekta izložene površine oka i širine vjeđnog rasporka, pretežito su se odnosila na bolesnike s distiroidnom orbitopatijom. Sve navedeno je otežavalo usporedbu i interpretaciju rezultata ovog istraživanja.

Nadalje, iako je ovim istraživanjem dokazana povezanost širine vjeđnog rasporka i simptoma disfunkcije suznog filma, ta je korelacija uglavnom bila značajna samo kod žena starije i žena mlađe životne dobi. Također, korelacije širine vjeđnog rasporka i kliničkih znakova disfunkcije suznog filma nisu uvijek bile ujednačene u odnosu na spol ispitanika te odsustvo ili prisustvo kliničkih simptoma. Stoga je moguće pretpostaviti da bi se značajnijim povećanjem broja ispitanika u istraživanju kao i povećanjem broja ispitanika s izraženijim simptomima disfunkcije suznog filma te primjenom drugih dijagnostičkih kriterija disfunkcije suznog filma, utvrdile značajnije i konzistentnije korelacije s većom dijagnostičkom i prognostičkom točnošću. Sva navedena ograničenja, otvaraju put novim istraživanjima u budućnosti kojima bi se potvrdili rezultati i utvrdio stvaran značaj utjecaja širine vjeđnog rasporka na disfunkciju suznog filma.

7. ZAKLJUČAK

- Prosječne vrijednosti širine vjeđnog rasporka oba oka značajno su se razlikovale podjelom ispitanika prema dobi, ali i prema spolu unutar ispitivanih skupina kao i između dobnih skupina. Ispitanici mlađe životne dobi imali su značajno veće prosječne vrijednosti širine vjeđnog rasporka u odnosu na ispitanike starije životne dobi. Na tu su korelaciju najviše utjecale vrijednosti izmjerene kod ženskih ispitanika.
- Ponovljivost mjerenja širine vjeđnog rasporka u ovom istraživanju je bila izvrsna jer nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih dobnih skupina između tri mjerenja širine vjeđnog rasporka desnog i lijevog oka, kao niti s obzirom na prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma. Skupine ispitanika su se značajno razlikovale u sva tri mjerenja na oba oka. Stoga se već i jedno mjerenje na jednom oku može smatrati pouzdanim i mjerodavnim.
- Mjerenje širine vjeđnog rasporka plastičnim, prozirnim i nesavitljivim milimetarskim ravnalom pokazalo se jednostavnom, dostupnom i praktičnom metodom koja se može uključiti u svakodnevni rutinski klinički rad.
- Ovo istraživanje nije dokazalo značajnu povezanost ženskog spola i prisutnosti te izraženosti simptoma disfunkcije suznog filma, kao niti značajnu dobnu razliku, iako je postojala tendencija veće izraženosti simptoma kod žena starije životne dobi.
- Svi su se ispitivani klinički znakovi osim bojenja rožnice fluoresceinom i LIPCOF-a, značajno razlikovali među dobnim skupinama. Razlike prema spolu su bile nekonzistentne. Stoga se nameće teza o potrebi prilagodbe graničnih vrijednosti testova u dijagnostičkom postupku disfunkcije suznog filma sukladno životnoj dobi.
- Širina vjeđnog rasporka bila je značajno pozitivno povezana sa izraženošću i težinom simptoma disfunkcije suznog filma kod žena mlađe životne dobi, odnosno značajno negativno s učestalošću osjećaja teškog otvaranja očiju ujutro kod žena starije životne dobi. Ispitanici sa najvećim vrijednostima širine vjeđnog rasporka, imali su i veću učestalost te intezitet simptoma disfunkcije suznog filma.

- Širina vjeđnog rasporka bila je značajno negativno povezana s vrijednostima NIBUT-a i TBUT-a u ispitanika mlađe i starije životne dobi. Kraće vrijednosti TBUT-a i NIBUT-a bile su značajnije izražene u muškaraca i žena mlađe životne dobi i veće širine vjeđnog rasporka. Stoga su ovi znakovi uspješno detektirali ispitanike sa širim vjeđnim rasporkom neovisno o dobi. Nadalje, uz prisutnost simptoma disfunkcije suznog filma, navedena je korelacija bila značajna samo u odnosu na vrijednosti NIBUT-a u mlađih žena. S druge strane, korelacija s hiperemijom spojnice bila je značajno negativna kod mlađih žena, kao i u ispitanika sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma.
- Povezanost širine vjeđnog rasporka i promijenjenog izgleda sekreta Meibomovih žlijezdi bila je značajno negativna u svih ispitanika uključenih u istraživanje, potom u ispitanika starije životnoj dobi, te u onih sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma.
- Širina vjeđnog rasporka je značajno pozitivno korelirala s pozitivnim nalazom bojenja rožnice u ispitanika s prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma. Taj je klinički znak uspješno detektirao ispitanike sa prisutnim smetnjama i narušenom funkcijom suznog filma te širim vjeđnim rasporkom.
- Vrijednosti LIPCOF-a oba oka su pokazale granično značajnu, slabu pozitivnu korelaciju s širinom vjeđnog rasporka u ispitanika mlađe životne dobi, dok ostale povezanosti nisu bile niti granično značajne.
- Svi su klinički znaci, osim hiperemije spojnice i ekspresije Meibomovih žlijezdi pokazali značajno lošije rezultate u smislu disfunkcije suznog filma u ispitanika sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka nakon podjele ispitanika prema životnoj dobi. Najveća povezanost širine vjeđnog rasporka, prisutnosti simptoma i disfunkcije suznog filma utvrđena je kod bojenja rožnice fluoresceinom, neovisno o dobi i spolu.
- Izraženija hiperemija spojnice, viši LIPCOF i kraći TBUT u ovom su istraživanju bili najbolji prediktori i indikatori za prisutnost i razvoj disfunkcije suznog filma.
- Širina vjeđnog rasporka mjerena na ovakav način, rutinski u toku standardnog oftalmološkog pregleda, je mogući indikator i prediktor disfunkcije suznog filma kod zdravih pojedinaca sa većim vrijednostima širine vjeđnog rasporka i posljedično veće izloženosti površine oka, u odnosu na dob.

- Otvorenost oka i veća izloženost očne površine različitim vanjskim ambijentalnim i/ili okolišnim uvjetima imaju važan utjecaj na integritet i funkciju suznog filma. Ti čimbenici u potencijalnom međudjelovanju u svakodnevnom životu kod zdravih ispitanika, mogu doprinijeti povećanoj evaporaciji i razvoju hiperosmolarnosti suza i očne površine, te u konačnici i razvoju disfunkcije suznog filma. Stoga bi se involutivne promjene vjeđa i vjeđnog rasporka, mogle smatrati zaštitnim mehanizmom od pojačane evaporacije i isušivanja oka u starijoj životnoj dobi.
- Važnost je ovog istraživanja i u sigurnijem planiranju rekonstruktivnih i estetskih zahvata u periokularnoj regiji pri čemu postoperativne promjene eksponirane očne površine mogu utjecati na povećanje rizika od razvoja simptoma i znakova disfunkcije suznog filma.
- Širina vjeđnog rasporka je kao osobni čimbenik, mogući indikator i prediktor razvoja pretežito evaporativne komponentne disfunkcije suznog filma kod zdravih pojedinaca te u kombinaciji s procjenom simptoma i kliničkih znakova, koristan alat u dijagnostičkom algoritmu disfunkcije suznog filma u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

8. KRATAK SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

Naslov: UTJECAJ ŠIRINE VJEĐNOGA RASPORKA NA DISFUNKCIJU SUZNOGA FILMA

Autor: Ana Čović, 2022.

Cilj: Ispitati utjecaj širine vjeđnog rasporka mjerenog plastičnim ravnalom u primarnom položaju oka pri pogledu ravno naprijed na disfunkciju suznog filma kod zdravih pojedinaca, i to u odnosu na dob i spol. **Metode:** U ovo presječno istraživanje je bilo uključeno 120 ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema životnoj dobi s podjednakim omjerom žena i muškaraca u skupinama. Dob od 50 godina određena je kao granična. Obje skupine uključivale su 30 ispitanika s prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma. Za procjenu simptoma disfunkcije suznog filma koristio se Scheinov upitnik, a za procjenu kliničkih znakova hiperemija spojnice, NIBUT, ekspresija Meibomovih žlijezdi, TBUT, bojenje rožnice fluoresceinom te LIPCOF. **Rezultati:** Simptomi disfunkcije suznog filma bili su značajno izraženiji i učestaliji kod žena mlađe životne dobi i većih prosječnih vrijednosti širine vjeđnog rasporka. U žena starije životne dobi utvrđena je značajno negativna povezanost širine vjeđnog rasporka i učestalosti simptoma. Širina vjeđnog rasporka bila je značajno negativno povezana s vrijednostima NIBUT-a i TBUT-a u ispitanika mlađe i starije životne dobi te značajno pozitivno s pozitivnim nalazom bojenja rožnice fluoresceinom i većim vrijednostima LIPCOF-a u skupini ispitanika sa simptomima neovisno o dobi. Povezanost iste je sa hiperemijom spojnice i zamućenim izgledom sekreta Meibomovih žlijezdi bila značajno negativna u skupini sa prisutnim simptomima disfunkcije suznog filma. Izraženija hiperemija spojnice, viši LIPCOF i kraći TBUT u ovom su istraživanju bili najbolji prediktori i indikatori za prisutnost i razvoj disfunkcije suznog filma. **Zaključak:** Širina vjeđnog rasporka je kao osobni čimbenik, mogući indikator i prediktor razvoja pretežito evaporativne komponentne disfunkcije suznog filma kod zdravih pojedinaca te u kombinaciji s procjenom simptoma i kliničkih znakova, koristan alat u dijagnostičkom algoritmu disfunkcije suznog filma u svakodnevnoj kliničkoj praksi, i to u sklopu standardnog oftalmološkog pregleda.

9. KRATAK SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU

Title: THE INFLUENCE OF PALPEBRAL FISSURE WIDTH ON THE TEAR FILM DYSFUNCTION

Author: Ana Čović, 2022.

Aim: To determine the influence of palpebral fissure width measured with plastic ruler in a primary gaze position on the tear film dysfunction in healthy individuals, according to age and gender. **Methods:** 120 subjects were enrolled in this cross-sectional study and divided according to age into two groups with an equal distribution of men and women. Age of 50 was determined as an age limit. Both of the groups included 30 subjects with and without tear film dysfunction symptoms. Schein questionnaire was used in order to determine the presence of the tear film dysfunction symptoms. Ocular signs were assessed by conjunctival hyperemia, NIBUT, Meibomian gland expressibility, TBUT, corneal staining and LIPCOF. **Results:** Symptoms of the tear film dysfunction were significantly more pronounced and more frequent in younger women with higher mean values of the palpebral fissure width. In older women, a significantly negative correlation was found between the palpebral fissure width and the frequency of symptoms. Palpebral fissure width was significantly negatively associated with NIBUT and TBUT values in younger and older subjects and significantly positively with a positive finding of corneal fluorescein staining and higher LIPCOF values in the group of subjects with symptoms regardless of age. Correlation of the same with conjunctival hyperemia and cloudy appearance of Meibomian gland secretions was significantly negative in the group with symptoms of the tear film dysfunction. Conjunctival hyperemia, LIPCOF and TBUT were the best indicators and predictors of the tear film dysfunction. **Conclusion:** As a personal factor, palpebral fissure width is a possible indicator and predictor of the predominantly evaporative tear film dysfunction in healthy individuals and in the combination with the assessment of symptoms and clinical signs, an useful tool in diagnostic algorithm for the tear film dysfunction in everyday clinical practice, as a part of the standard ophthalmological examination.

10. POPIS LITERATURE

1. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, i sur. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):366-403.
2. Farrand KF, Fridman M, Stillman IO, Schaumberg DA. Prevalence of Diagnosed Dry Eye Disease in the United States Among Adults Aged 18 Years and Older. *Am J Ophthalmol.* 2017;182:90-8.
3. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, i sur. TFOS DEWS II Epidemiology report. *Ocul Surf.* 2017;15:334-365.
4. Yu J, Asche CV, Fairchild CJ. The economic burden of dry eye disease in the United States: a decision tree analysis. *Cornea.* 2011;30:379–87.
5. Bron AJ, DePaiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, i sur. TFOS DEWS II Pathophysiology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):438-510.
6. Schirmer O. Studien zur physiologie und pathologie der tranen-absonderung und tranenabfuhr, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1903;56:197-291.
7. Sjögren H. Zur Kenntnis der Keratoconjunctivitis sicca. *Acta Ophthalmol (Kbh).* 1933;11:1.
8. Lemp MA. Report of the national eye institute/industry workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J.* 1995;21:221-232.
9. Brewitt H. Diagnostik und Therapie des trockenen Auges. *Z Prakt Augenheilkd.* 1995;16:349-54.
10. Behrens A, Doyle JJ, Stern L, Chuck RS, McDonnell PJ, Azar DT, i sur. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea.* 2006;25(8):900-907.
11. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop. *Ocul Surf.* 2007;5(2):75-92.

12. Tsubota K, Yokoi N, Shizamaki J, Watanabe H, Dogru M, Yamada M, i sur. New perspectives on dry eye definition and diagnosis: A consensus report by the Asia dry eye society. *Ocul Surf.* 2017;15:65-76.
13. Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, Holopainem JH, Laurie GW, Millar TJ, i sur. TFOS DEWS II Tear Film report. *Ocul Surf.* 2017;15:366-403.
14. Akpek EK, Amescua G, Farid M, Garcia-Ferrer FJ, Lin A, Rhee MK, i sur. Dry Eye Syndrome Preferred Practice Pattern. *Ophthalmology.* 2019;126(1):286-334.
15. Tsubota K, Pflugfelder SC, Liu Z, Baudouin C, Kim HM, Messmer EM, i sur. Defining Dry Eye from a Clinical Perspective. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9271.
16. McCulley JP, Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA Impact of evaporation on aqueous tear loss. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2006;104:121-8.
17. Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology.* 1998;105(8):1485-1488.
18. Autori nisu navedeni. The epidemiology of dry eye disease: report of the epidemiology subcommittee of the international dry eye WorkShop. *Ocul Surf* 2007;5:93-107.
19. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, i sur. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15:539-574.
20. Jones L, Downie LE, Korb D, Benitez-Del-Castillo JM, Dana R, Deng SX, i sur. TFOS DEWS II Management and Therapy report. *Ocul Surf.* 2017;15:575-628.
21. Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res.* 2013;117:99-105.
22. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf.* 2003;1:107-126.
23. Schaumberg DA, Nichols JJ, Papas EB, Tong L, Uchino M, Nichols KK. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for, MGD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:1994-2005.

24. Sullivan BD, Evans JE, Cermak JM, Krenzer KL, Dana MR, Sullivan DA. Complete androgen insensitivity syndrome: effect on human meibomian gland secretions. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:1689-1699.
25. Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1938-1978.
26. Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, Borchman D, Paulsen F, Barabino S, i sur. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:1979-1993.
27. Gomes JAP, Azar DT, Baudouin C, Efron N, Hirayama M, Horwath-Winter J, i sur. TFOS DEWS II iatrogenic report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):511-538.
28. Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophtalmol*. 2007;30:239-246.
29. Tian YT, Liu Y, Zou HD, Jiang YJ, Liang XQ, Sheng MJ, i sur. Epidemiologic study of dry eye in populations equal or over 20 years old in Jiangning District of Shanghai. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2009;45:486-491.
30. Viso E, Rodriguez-Ares MT, Gude F. Prevalence of and associated factors for dry eye in a Spanish adult population (the Salnes Eye Study). *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16(1):15-21.
31. Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, Emamian MH, Mehravaran S, Shariati M, i sur. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014;42(3):242-248.
32. Malet F, Le Goff M, Colin J, Delyfer MN, Korobelnik JF, Rougier MB, i sur. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. *Acta Ophthalmol*. 2014;92(6):429-436.
33. Vehof J, Kozareva D, Hysi PG, Hammond CJ. Prevalence and risk factors of dry eye disease in a British female cohort. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(12):1712-1717.

34. Jie Y, Xu L, Wu YY, Jonas JB. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study. *Eye (Lond)*. 2009;23(3):688-693.
35. Han SB, Hyon JY, Woo SJ, Lee JJ, Kim TH, Kim KW. Prevalence of dry eye disease in an elderly Korean population. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(5):633-638 .
36. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R, i sur. Dry eye in the beaver dam offspring study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(4):799-806.
37. Tan LL, Morgan P, Cai ZQ, Straughan RA. Prevalence of and risk factors for symptomatic dry eye disease in Singapore. *Clin Exp Optomet*. 2015;98(1):45-53.
38. Lu P, Chen X, Liu X, Yu L, Kang Y, Xie Q, i sur. Dry eye syndrome in elderly Tibetans at high altitude: a population-based study in China. *Cornea*. 2008;27(5):545-551.
39. Guo B, Lu P, Chen X, Zhang W, Chen R. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2010;17(4):234-241.
40. Tongg L, Saw SM, Lamoureux EL, Wang JJ, Rosman M, Tan DTH, i sur. A questionnaire-based assessment of symptoms associated with tear film dysfunction and lid margin disease in an Asian population. *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16(1):31-37.
41. Dana R, Bradley JL, Guerin A, Pivneva I, Stillman IÖ, Evans AM, i sur. Estimated Prevalence and Incidence of Dry Eye Disease Based on Coding Analysis of a Large, All-age United States Health Care System. *Am J Ophthalmol*. 2019;202:47-54.
42. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol*. 2003;136(2):318-326.
43. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(6):763-768.
44. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, Huang GH, Klein BE, Klein R, i sur. Dry eye in the Beaver Dam Offspring Study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(4):799-806.

45. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol*. 2000;118(9):1264-1268.
46. Schaumberg DA, Uchino M, Christen WG, Semba RD, Buring JE, Li JZ. Patient reported differences in dry eye disease between men and women: impact, management, and patient satisfaction. *PLoS One*. 2013;8(9):e76121.
47. Bartlett JD, Keith MS, Sudharshan L, Snedecor SJ. Associations between signs and symptoms of dry eye disease: a systematic review. *Clin Ophthalmol*. 2015;9:1719-1730.
48. Baudouin C, Aragona P, Van Setten G, Rolando M, Irkeç M, Benítez del Castillo J, i sur. ODISSEY European Consensus Group members. Diagnosing the severity of dry eye: a clear and practical algorithm. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(9):1168-1176.
49. Ahn JM, Lee SH, Rim TH, Park RJ, Yang HS, Kim TI, i sur. Epidemiologic Survey Committee of the Korean Ophthalmological Society. Prevalence of and risk factors associated with dry eye: the Korea national health and nutrition examination survey 2010-2011. *Am J Ophthalmol*. 2014;158(6):1205-1214.
50. Um SB, Kim NH, Lee HK, Song JS, Kim HC. Spatial epidemiology of dry eye disease: findings from South Korea. *Int J Health Geogr*. 2014;13:31.
51. Moss SE, Klein R, Klein BE. Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optom Vis Sci*. 2008;85(8):668-674.
52. Sahai A, Malik P. Dry eye: prevalence and attributable risk factors in a hospital-based population. *Indian J Ophthalmol*. 2005;53(2):87-91.
53. Galor A, Feuer W, Lee DJ, Florez H, Carter D, Pouyeh B, i sur. Prevalence and risk factors of dry eye syndrome in a United States veterans affairs population. *Am J Ophthalmol*. 2011;152(3):377-384.
54. Onwubiko SN, Eze BI, Udeh NN, Arinze OC, Onwasigwe EN, Umeh RE. Dry eye disease: prevalence, distribution and determinants in a hospital-based population. *Cont Lens Anterior Eye*. 2014;37(3):157-161.
55. Lee AJ, Lee J, Saw SM, Florez H, Carter D, Pouyeh B, i sur. Prevalence and risk factors associated with dry eye symptoms: a population based study in Indonesia. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(12):1347-1351.

56. Schein OD, Tielsch JM, Muñoz B, Bandeen-Roche K, West S. Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology*. 1997;104(9):1395-1401.
57. Lin PY, Tsai SY, Cheng CY, Liu JH, Chou P, Hsu WM. Prevalence of dry eye among an elderly Chinese population in Taiwan: the Shihpai Eye Study. *Ophthalmology*. 2003;110(6):1096-1101.
58. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res*. 2004;78:409-416.
59. Dartt DA. Dysfunctional neural regulation of lacrimal gland secretion and its role in the pathogenesis of dry eye syndromes. *Ocular Surface*. 2004;2:76.
60. American Academy of Ophthalmology. Clinical approach to ocular disorders. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: External Disease and Cornea. Sv. 8. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 37-83.
61. King-Smith PE, Fink BA, Fogt N, Nichols KK, Hill RM, Wilson GS. The thickness of the human precorneal tear film: evidence from reflection spectra. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3348–59.
62. Bai Y, Ngo W, Gu B, Zhang Y, Nichols JJ. An imaging system integrating optical coherence tomography and interferometry for in vivo measurement of the thickness and dynamics of the tear film. *Biomed Eng Online*. 2018;17:164.
63. Wang J, Aquavella J, Palakuru J, Chung S, Feng C. Relationships between central tear film thickness and tear menisci of the upper and lower eyelids. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:4349–55.
64. Azartash K, Kwan J, Paugh JR, Nguyen AL, Jester JV, Gratton E. Pre-corneal tear film thickness in humans measured with a novel technique. *Mol Vis*. 2011;17:756-767.
65. Holly FJ. Formation and rupture of the tear film. *Exp Eye Res*. 1973;15:515-525.
66. King-Smith PE, Kimball SH, Nichols JJ. Tear film interferometry and corneal surface roughness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:2614-2618.

67. Doane MG. Dynamics of the human blink. *Ber Zusammenkunft Dtsch Ophthalmol Ges.* 1979;13-17.
68. McDonald JE, Brubaker S. Meniscus-induced thinning of tear films. *Am J Ophthalmol.* 1971;72:139–46.
69. Miller KL, Polse KA, Radke CJ. Black-line formation and the “perched” human tear film. *Curr Eye Res.* 2002;25:155–62.
70. Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. A hypothesis to explain Marx's line. *Ocul Surf.* 2011;9:70-91.
71. Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res.* 2004;78:347-360.
72. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci.* 1997;74:8-13.
73. Dartt DA, Willcox MPD. Complexity of the tear film: Importance in homeostasis and dysfunction during disease. *Exp Eye Res.* 2013;117:1-3.
74. Wolff E. The muco-cutaneous junction of the lid margin and the distribution of the tear fluid. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1946;66:291-308.
75. Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eyes. *Surv Ophthalmol.* 1977;22:69-87.
76. Craig JP, Willcox MD, Argüeso P, Maissa C, Stahl U, Tomlinson A, i sur. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the contact lens interactions with the tear film subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(11):123-56.
77. Dilly PN. Structure and function of the tear film. *Adv Exp Med Biol.* 1994;350:239-47.
78. Cher I. A new look at lubrication of the ocular surface: fluid mechanics behind the blinking eyelids. *Ocul Surf.* 2008;6:79-86.
79. King-Smith PE, Fink BA, Hill RM, Koelling KW, Tiffany JM. The thickness of the tear film. *Curr Eye Res.* 2004;29:357-368.

80. Sullivan DA, Sullivan BD, Ullman MD, Rocha EM, Krenzer KL, Cermak JM, i sur. Androgen influence on the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:732-3742.
81. Obata H. Anatomy and histopathology of human meibomian gland. *Cornea.* 2002;21:70-74.
82. Butovich IA. Tear film lipids. *Exp Eye Res.* 2013;117:4-27.
83. Pucker AD, Nichols JJ. Analysis of meibum and tear lipids. *Ocul Surf.* 2012;10:230-50.
84. Brown SH, Kunnen CM, Duchoslav E, Dolla NK, Kelso MJ, Papas EB, i sur. A comparison of patient matched meibum and tear lipidomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:7417-24.
85. Chew CK, Hykin PG, Jansweijer C, Dikstein S, Tiffany JM, Bron AJ. The casual level of meibomian lipids in humans. *Curr Eye Res.* 1993;12:255–9.
86. Lam SM, Tong L, Reux B, Duan X, Petznick A, Yong SS, i sur. Lipidomic analysis of human tear fluid reveals structure-specific lipid alterations in dry eye syndrome. *J Lipid Res.* 2014;55:299-306.
87. Tiffany JM. The lipid secretion of the meibomian glands. *Adv Lipid Res.* 1987;22:1-62.
88. Butovich IA, Lu H, McMahon A, Ketelson H, Senchyna M, Meadows D, i sur. Biophysical and morphological evaluation of human normal and dry eye meibum using hot stage polarized light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55:87-101.
89. Blackie CA, Korb DR, Knop E, Bedi R, Knop N, Holland EJ. Nonobvious obstructive meibomian gland dysfunction. *Cornea.* 2010;29:1333-1345.
90. McCulley JP, Shine WE. The lipid layer of tears: dependent on meibomian gland function. *Exp Eye Res.* 2004;78:361.
91. King-Smith PE, Hinel EA, Nichols JJ. Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:2418-23.

92. Herok GH, Mudgil P, Millar TJ. The effect of Meibomian lipids and tear proteins on evaporation rate under controlled in vitro conditions. *Curr Eye Res.* 2009;34:589–97.
93. Rosenfeld L, Fuller GG. Consequences of interfacial viscoelasticity on thin film stability. *Langmuir.* 2012;28:14238–44.
94. Yokoi N, Yamada H, Mizukusa Y, Bron AJ, Tiffany JM, Kato T, i sur. Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:5319-24.
95. Goto E, Tseng SC. Kinetic analysis of tear interference images in aqueous tear deficiency dry eye before and after punctal occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:1897–905.
96. Rolando M, Valente C, Barabino S. New test to quantify lipid layer behavior in healthy subjects and patients with keratoconjunctivitis sicca. *Cornea.* 2008;27:866-70.
97. Kuloovesi P, Telenius J, Koivuniemi A, Brezesinski G, Vattulainen I, Holopainen JM. The impact of lipid composition on the stability of the tear fluid lipid layer. *Soft Matter.* 2012;8:5826-34.
98. Tomlinson A, Khanal S. Assessment of tear film dynamics: quantification approach. *Ocul Surf.* 2005;3:81–95.
99. Messmer EM, Bulgen M, Kampik A. Hyperosmolarity of the tear film in dry eye syndrome. *Dev Ophthalmol.* 2010;45:129–38.
100. Lemp MA, Bron AJ, Baudouin C, Benítez Del Castillo JM, Geffen D, Tauber J, i sur. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol.* 2011;151:792-8.
101. Chen SP, Massaro-Giordano G, Pistilli M, Schreiber CA, Bunya VY. Tear osmolarity and dry eye symptoms in women using oral contraception and contact lenses. *Cornea.* 2013;32:423-8.
102. Caffery B, Chalmers RL, Marsden H, Nixon G, Watanabe R, Harrison W, i sur. Correlation of tear osmolarity and dry eye symptoms in convention attendees. *Optom Vis Sci.* 2014;91:142-9.

103. Fuerst N, Langelier N, Massaro-Giordano M, Pistilli M, Stasi K, Burns C, i sur. Tear osmolarity and dry eye symptoms in diabetics. *Clin Ophthalmol*. 2014;8:507-15.
104. Stahl U, Willcox M, Stapleton F. Osmolality and tear film dynamics. *Clin Exp Optom*. 2012;95:3-11.
105. Fortes MB, Diment BC, Di Felice U, Gunn AE, Kendall JL, Esmaeelpour M, i sur. Tear fluid osmolarity as a potential marker of hydration status. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43:1590-7.
106. Tashbayev B, Utheim TP, Utheim QA, Ræder S, Jensen JL, Yazdani M, i sur. Utility of Tear Osmolarity Measurement in Diagnosis of Dry Eye Disease. *Sci Rep*. 2020;10(1):5542.
107. Sullivan BD, Pepose JS, Foulks GN. Progressively increased variation in tear osmolarity mirrors dry eye severity. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133:1481-2.
108. Li L, Braun RJ, Driscoll TA, Henshaw WD, Banks JW, King-Smith PE. Computed tear film and osmolarity dynamics on an eye-shaped domain. *Math Med Biol*. 2016;33:123-57.
109. Braun RJ, King-Smith PE, Begley CG, Li L, Gewecke NR. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle. *Prog Retin Eye Res*. 2015;45:132-64.
110. Eperjesi F, Aujla M, Bartlett H. Reproducibility and repeatability of the OcuSense TearLab osmometer. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2012;250:1201-5.
111. Yamada M, Mochizuki H, Kawai M, Yoshino M, Mashima Y. Fluorophotometric measurement of pH of human tears in vivo. *Curr Eye Res*. 1997;16:482-6.
112. Carney LG, Hill RM. Human tear pH. Diurnal variations. *Arch Ophthalmol*. 1976;94:821-4.
113. Khurana AK, Chaudhary R, Ahluwalia BK, Gupta S. Tear film profile in dry eye. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1991;69:79-86.
114. Norn MS. Tear fluid pH in normals, contact lens wearers, and pathological cases. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1988;66:485-9.

115. Maragou M, Vaikousis E, Ntre A, Koronis N, Georgiou P, Hatzidimitriou E, i sur. Tear and saliva ferning tests in Sjogren's syndrome (SS) Clin Rheumatol. 1996;15:125-32.
116. Puderbach S, Stolze HH. Tear ferning and other lacrimal tests in normal persons of different ages. Int Ophthalmol. 1991;15:391-5.
117. Srinivasan S, Joyce E, Jones LW. Tear osmolality and ferning patterns in postmenopausal women. Optom Vis Sci. 2007;84:588-92.
118. Sharanjeet K, Ho CY, Mutalib HA, Ghazali AR. The relationship between tear ferning patterns and non-invasive tear break-up time in normal Asian population. J Optom. 2016;9:175-81.
119. Evans KS, North RV, Purslow C. Tear ferning in contact lens wearers. Ophthalmic Physiol Opt. 2009;29:199-204.
120. Bitton E, Keech A, Jones L, Simpson T. Subjective and objective variation of the tear film pre- and post-sleep. Optom Vis Sci. 2008;85:740-9.
121. Masmali AM, Al-Qhtani S, Al-Gasham TM, El-Hiti GA, Purslow C, Murphy PJ. Application of a new grading scale for tear ferning in non-dry eye and dry eye subjects. Cont Lens Anterior Eye. 2015;38:39-43.
122. Goto E, Endo K, Suzuki A, Fujikura Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Tear evaporation dynamics in normal subjects and subjects with obstructive meibomian gland dysfunction. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44(2):533-9.
123. Mathers WD, Daley TE. Tear flow and evaporation in patients with and without dry eye. Ophthalmology. 1996;103:664-9.
124. Abusharha AA, Yami AA , Alsreea K, Abusharha A, Alanazi MA, Masmali AM, i sur. Repeatability and Reproducibility of Tear Film Evaporation Rate Measurement using a new Closed-Chamber Evaporimeter. The Open Ophthalmology Journal. 2021;15:117-121.
125. Tomlinson A, Doane MG, McFadyen A. Inputs and outputs of the lacrimal system: review of production and evaporative loss. Ocul Surf. 2009;7(4):186-198.

126. McCulley JP, Shine WE, Aronowicz J, Oral D, Vargas J. Presumed hyposecretory/hyperevaporative KCS: tear characteristics. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2003;101:141-152.
127. Tomlinson A, Pearce EI, Simmons PA, Blades K. Effect of oral contraceptives on tear physiology. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2001;21(1):9-16.
128. Khanal S, Tomlinson A, Diaper CJ. Tear physiology of aqueous deficiency and evaporative dry eye. *Optom Vis Sci.* 2009;86(11):1235-1240.
129. Rohit A, Ehrmann K, Naduvilath T, Willcox M, Stapleton F. Validating a new device for measuring tear evaporation rates. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2014;34:53-62.
130. Alanazi SA, Abusharha A, Fagehi R. Assessment of the Tear Evaporation Rate in Chronic Smokers Using Delfin VapoMeter *International Journal of Ophthalmology & Visual Science.* 2019;4(2):37-41.
131. Shine WE, McCulley JP. Polar lipids in human meibomian gland secretions. *Curr Eye Res.* 2003;26:89-94.
132. Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea.* 1996;15:229-34.
133. Guillon M, Maissa C. Tear film evaporation—effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010;33:171-5.
134. Yeo S, Tan JH, Acharya UR, Sudarshan VK, Tong L. Longitudinal changes in tear evaporation rates after eyelid warming therapies in meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57:1974-81.
135. Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular surface area and blink rate on tear dynamics. *Arch Ophthalmol.* 1995;113:155-8.
136. McCulley JP, Aronowicz JD, Uchiyama E, Shine WE, Butovich IA. Correlations in a change in aqueous tear evaporation with a change in relative humidity and the impact. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:758-60.
137. Kimball SH, King-Smith PE, Nichols JJ. Evidence for the Major Contribution of Evaporation to Tear Film Thinning between Blinks. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(12): 6294-6297.

138. Korb DR, Scaffidi RC, Greiner JV, Kenyon KR, Herman JP, Blackie CA, i sur. The effect of two novel lubricant eye drops on tear film lipid layer thickness in subjects with dry eye symptoms. *Optom Vis Sci.* 2005;82:594-601.
139. Arciniega JC, Wojtowicz JC, Mohamed EM, McCulley JP. Changes in the evaporation rate of tear film after digital expression of meibomian glands in patients with and without dry eye. *Cornea.* 2011;30:843-7.
140. Brown SI, Dervichian DG. The oils of the meibomian glands. Physical and surface characteristics. *Arch Ophthalmol.* 1969;82:537-40.
141. Cerretani CF, Ho NH, Radke CJ. Water-evaporation reduction by duplex films: application to the human tear film. *Adv Colloid Interface Sci.* 2013;197-198:33-57.
142. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Mathews J, Leake K, Bell J. Factors affecting evaporation rates of tear film components measured in vitro. *Eye Contact Lens.* 2009;35:32-7.
143. Rantamaki AH, Javanainen M, Vattulainen I, Holopainen JM. Do lipids retard the evaporation of the tear fluid? *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:6442-7.
144. Yokoi N, Bron AJ, Georgiev GA. The precorneal tear film as a fluid shell: the effect of blinking and saccades on tear film distribution and dynamics. *Ocul Surf.* 2014;12:252-266.
145. Davidson HJ, Kuonen VJ. The tear film and ocular mucins. *Vet Ophthalmol.* 2004;7:71.
146. Gipson IK, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol.* 2003;231:1-49.
147. Corfield AP. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1850:236-52.
148. Govindarajan B, Gipson IK. Membrane-tethered mucins have multiple functions on the ocular surface. *Exp Eye Res.* 2010;90:655-63.
149. Argueso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana R, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:1004-1011.

150. Shimazaki-Den S, Dogru M, Higa K, Shimazaki J. Symptoms, visual function, and mucin expression of eyes with tear film instability. *Cornea*. 2013;32(9):1211-1218.
151. Zhang J, Yan X, Li H. Analysis of the correlations of mucins, inflammatory markers, and clinical tests in dry eye. *Cornea*. 2013;32:928-32.
152. Dogru M, Matsumoto Y, Okada N, Igarashi A, Fukagawa K, Shimazaki J, i sur. Alterations of the ocular surface epithelial MUC16 and goblet cell MUC5AC in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Allergy*. 2008;63:1324-34.
153. Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, Dogru M, Kawashima M, Okada N, i sur. Alteration of tear mucin 5AC in office workers using visual display terminals: the Osaka Study. *JAMA Ophthalmol*. 2014; 132: 985–992.
154. Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, Dogru M, Kawashima M, Komuro A, i sur. Impact of cigarette smoking on tear function and correlation between conjunctival goblet cells and tear MUC5AC concentration in office workers. *Sci Rep*. 2016;6:27699.
155. Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol*. 1965;73:233-241.
156. Azkargorta M, Soria J, Ojeda C, Guzmán F, Acera A, Iloro I, i sur. Human basal tear peptidome characterization by CID, HCD, and ETD followed by in silico and in vitro analyses for antimicrobial peptide identification. *J Proteome Res*. 2015;14:2649-58.
157. Dartt DA. Tear lipocalin: structure and function. *The ocular surface*. 2011;9:126-138.
158. Puihas A, Sampaio P, Castanheira EM, Real Oliveira ME, Lira M. Comparison of IgA, TNF-alpha and surface tension of the tear film in two different times of the day. *Cont Lens Anterior Eye*. 2013;36(3):140-5.
159. Campos-Rodriguez R, Oliver-Aguillon G, Vega-Perez LM, Jarillo-Luna A, Hernández-Martínez D, Rojas-Hernández S, i sur. Human IgA inhibits adherence of *Acanthamoeba polyphaga* to epithelial cells and contact lenses. *Can J Microbiol*. 2004;50:711-718.

160. Virtanen T, Konttinen YT, Honkanen N, Harkonen M, Tervo T. Tear fluid plasmin activity of dry eye patients with Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997;75:137-41.
161. American Academy of Ophthalmology. Development, anatomy and physiology of the lacrimal secretory and drainage systems. U: McGuire A, ur. *Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: Orbit, Eyekids, and Lacrimal System.* sv. 7. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 243-248.
162. Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. *Prog Retin Eye Res.* 1998;17:565-596.
163. Begley C, Chalmers RL, Abetz L, Venkataraman K, Mertzanis P, Caffery BA, i sur. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:4753-4761.
164. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(5):615-621.
165. Chalmers RL, Begley CG, Caffery B. Validation of the 5-Item Dry Eye Questionnaire (DEQ-5): Discrimination across self-assessed severity and aqueous tear deficient dry eye diagnoses. *Cont. Lens Anterior Eye.* 2010;33:55-60.
166. Abetz L, Venkataraman K, Mertzanis P, Chalmers R, Begley C. The Development, Reliability and Validity of a Questionnaire to Assess the Impact of Dry Eyes on Everyday Life (IDEEL). *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003;44:2477.
167. Sakane Y, Yamaguchi M, Yokoi N, Uchino M, Dogru M, Oishi T, i sur. Development and validation of the Dry Eye-Related Quality-of-Life Score questionnaire. *JAMA Ophthalmol.* 2013;131:1331-1338.
168. Amparo F, Schaumberg DA, Dana R. Comparison of two questionnaires for dry eye symptom assessment: the ocular surface disease index and the symptom assessment in dry eye. *Ophthalmology.* 2015;122(7):1498-1503.
169. Paugh JR, Nguyen AL. Validation of the Modified Schein Dry Eye Symptom Questionnaire. *Invest Ophthalmol & Vis Sci.* 2006;47:276.
170. Rieger G. The importance of the precorneal tear film for the quality of optical imaging. *Br J Ophthalmol.* 1992;76:57-158.

171. Koh S, Higashiura R, Maeda N. Overview of objective methods for assessing dynamic changes in optical quality. *Eye Contact Lens*. 2016;42:333–338.
172. Montés-Micó R, Alió JL, Muñoz G, Charman WN. Temporal changes in optical quality of air-tear film interface at anterior cornea after blink. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45:1752–1757.
173. Koh S. Mechanisms of Visual Disturbance in Dry Eye. *Cornea*. 2016;35(1):83-88.
174. Koh S. Irregular Astigmatism and Higher-Order Aberrations in Eyes With Dry Eye Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(14):36-40.
176. Buehren T, Collins MJ, Iskander DR, Davis B, Lingelbach B. The stability of corneal topography in the post-blink interval. *Cornea*. 2001;20:826-833.
177. Koh S, Maeda N, Ikeda C, Asonuma S, Mitamura H, Oie Y, i sur. Ocular forward light scattering and corneal backward light scattering in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:6601-6606.
178. de Paiva CS, Lindsey JL, Pflugfelder SC. Assessing the severity of keratitis sicca with videokeratoscopic indices. *Ophthalmology*. 2003;110:1102–1109.
179. Goto T, Zheng X, Klyce SD, Kataoka H, Uno T, Karon M, i sur. A new method for tear film stability analysis using videokeratography. *Am J Ophthalmol*. 2003;135:607-612.
180. Liang J, Grimm B, Goelz S, Bille JF. Objective measurement of wave aberrations of the human eye with the use of a Hartmann-Shack wave-front sensor. *J Opt Soc Am A*. 1994;11:1949–1957.
181. Li KY, Yoon G. Changes in aberrations and retinal image quality due to tear film dynamics. *Opt Express*. 2006;14:12552–12559.
182. Denoyer A, Rabut G, Baudouin C. Tear film aberration dynamics and vision-related quality of life in patients with dry eye disease. *Ophthalmology*. 2012;119:1811–1818.
183. Koh S, Maeda N, Hirohara Y, Mihashi T, Ninomiya S, Bessho K, i sur. Serial measurements of higher-order aberrations after blinking in normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:318-3324.

184. Koh S, Maeda N, Hirohara Y, Mihashi T, Bessho K, Hori Y, et al. Serial measurements of higher-order aberrations after blinking in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:133-138.
185. Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol*. 2002;133:181-186.
186. Kaido M. Functional Visual Acuity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(14):29-35.
187. Walker PM, Lane KJ, Ousler GWIII, Abelson MB. Diurnal variation of visual function and the signs and symptoms of dry eye. *Cornea*. 2010;29:607-612.
188. Ridder WHIII, Zhang Y, Huang JF. Evaluation of reading speed and contrast sensitivity in dry eye disease. *Optom Vis Sci*. 2013;90:37-44.
189. Kaido M, Kawashima M, Shigeno Y, Yamada Y, Tsubota K. Relation of accommodative microfluctuation with dry eye symptoms in short tear break-up time dry eye. *PLoS One*. 2017;12(9):e0184296.
190. Petriček I. Utjecaj suznoga filma na vidnu funkciju [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2011.
191. Freudenthaler N, Neuf H, Kadner G, Schlote T. Characteristics of spontaneous eyeblink activity during video display terminal use in healthy volunteers. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003;241:914-920.
192. Pult H, Riede-Pult BH, Murphy PJ. The relation between blinking and conjunctival folds and dry eye symptoms. *Optom Vis Sci*. 2013;90:1034-1039.
193. Pult H, Tosatti SGP, Spencer ND, Asfour JM, Ebenhoch M, Murphy PJ. Spontaneous blinking from a tribological viewpoint. *Ocul Surf*. 2015;13:236-24.
194. Jester JV, Rife L, Nii D, Luttrull JK, Wilson L, Smith RE. In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1982;22:660-667.
195. Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology*. 2008;115:911-5.

196. Korb DR, Blackie CA. Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea*. 2008;27(10):1142-1147.
197. Abelson MB, Lane K, Maffei C. Code red: The key features of hyperemia. *Rev Ophthalmol*. 2010;17(4):92-94.
198. Schulze MM, Hutchings N, Simpson TL. Grading bulbar redness using cross-calibrated clinical grading scales. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;29:52(8):5812-7.
199. Yoneda T, Sumi T, Takahashi A, Hoshikawa Y, Kobayashi M, Fukushima A. Automated hyperemia analysis software: reliability and reproducibility in healthy subjects. *Japanese J of Ophthalmol*. 2012;56(1):1-7.
200. Macchi I, Bunya VY, Massaro-Giordano M, Stone RA, Maguire MG, Zheng Y, i sur. A New Scale for the Assessment of Conjunctival Bulbar Redness. *Ocul Surf*. 2018;16(4): 436-440.
201. Schulze MM, Ng A, Yang M, Panjwani F, Srinivasan S, Jones LW, i sur. Bulbar Redness and Dry Eye Disease: Comparison of a Validated Subjective Grading Scale and an Objective Automated Method. *Optom Vis Sci*. 2021;98(2):113-120.
202. Pult H, Tosatti SGP, Spencer ND, Asfour JM, Ebenhoch M, Murphy PJ. Spontaneous Blinking from a Tribological Viewpoint. *Ocul Surf*. 2015;13(3):236-49.
203. Höh H, Schirra F, Kienecker C, Ruprecht KW. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF): a definite diagnostic sign of dry eye. *Ophthalmologe*. 1995;92:802-808.
204. Pult H, Purslow C, Berry M, Murphy PJ. Clinical tests for successful contact lens wear: relationship and predictive potential. *Optom Vis Sci*. 2008;85(10):924-9.
205. Pult H, Purslow C, Murphy PJ. The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye (Lond)*. 2011;25(4):502-10.
206. Németh J, Fodor E, Lang Z, Kosina-Hagyó K, Berta A, Komár T, i sur. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(11):1380-5.
207. Veres A, Tapasztó B, Kosina-Hagyó K, Somfai GM, Németh J. Imaging Lid-Parallel Conjunctival Folds with OCT and Comparing Its Grading with the Slit Lamp

Classification in Dry Eye Patients and Normal Subjects. *Invest Ophthalmol & Vis Sci.* 2011;52:2945-2951.

208. American Academy of Ophthalmology. Examination techniques for the external eye and cornea. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: External Disease and Cornea. Sv. 8. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 11-36.

209. Bron AJ, Argueso P, Irkec M, Bright FV. Clinical staining of the ocular surface: mechanisms and interpretations. *Prog Retin eye Res.* 2015;44:36-61.

210. Glasgow BJ. Fluorescence lifetime imaging microscopy reveals quenching of fluorescein within corneal epithelium. *Exp Eye Res.* 2016;147:12-19.

211. Maurice DM. The use of fluorescein in ophthalmological research. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1967;6:464-477.

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

213. Scherz W, Doane MG, Dohlman CH. Tear volume in normal eyes and keratoconjunctivitis sicca. *Albr Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1974;192:141-150.

214. Hamrah P, Alipour F, Jiang S, Sohn JH, Foulks GN. Optimizing evaluation of Lissamine Green parameters for ocular surface staining. *Eye (Lond).* 2011;25:1429-1434.

215. van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1969;82:10-14.

216. Witcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, i sur. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjogren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol.* 2010;149:405-415.

217. Fenner BJ, Tong L. Corneal staining characteristics in limited zones compared with whole cornea documentation for the detection of dry eye subtypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:8013-8019.

218. Sullivan BD, Whitmer D, Nichols KK, Tomlinson A. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51:6125-6130.

219. Amparo F, Wang H, Yin J, Marmalidou A, Dana R. Evaluating Corneal Fluorescein Staining Using a Novel Automated Method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(6):168-173.
220. Zuazo F, Lopez-Ponce D, Salinas-Toro D, Valenzuela F, Sans-Puroja J, Srur M, i sur. Conjunctival impression cytology in patients with normal and impaired OSDI scores. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2014;89:391-396.
221. Kaufman HE. The practical detection of mmp-9 diagnoses ocular surface disease and may help prevent its complications. *Cornea.* 2013;32:211-216.
222. Meadows JF, Dionne K, Nichols KK. Differential profiling of t-cell cytokines as measured by protein microarray across dry eye subgroups. *Cornea.* 2016;35:329-335.
223. Brignole-Baudouin F, Riancho L, Ismail D, Deniaud M, Amrane M, Baudouin C. Correlation between the inflammatory marker HLA DR and signs and symptoms in moderate to severe dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(4):2438-2448.
224. Zhivov A, Stachs O, Kraak R, Stave J, Guthoff RF. In vivo confocal microscopy of the ocular surface. *Ocul Surf.* 2006;4:81-93.
225. Holly FJ. Physical chemistry of the normal and disordered tear film. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1985;104:374–379.
226. Golding TR, Bruce AS, Mainstone JC. Relationship between tear-meniscus parameters and tear-film breakup. *Cornea.* 1997;16:649-661.
227. Yokoi N, Bron A, Tiffany J, Brown N, Hsuan J, Fowler C. Reflective meniscometry: a non-invasive method to measure tear meniscus curvature. *Br J Ophthalmol.* 1999;83(1):92–97.
228. Lee KW, Kim JY, Chin HS, Seo KY, Kim TI, Jung JW. Assessment of the Tear Meniscus by Strip Meniscometry and Keratograph in Patients With Dry Eye Disease According to the Presence of Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea.* 2017;36(2):189-195.
229. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, i sur. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism

Classification Criteria for Primary Sjogren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69(1):35-45.

230. Li N, Deng XG, He MF. Comparison of the Schirmer I test with and without topical anesthesia for diagnosing dry eye. *Int J Ophthalmol.* 2012;5:478-481.

231. Serin D, Karsloglu S, Kyan A, Alagoz G. A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed? *Cornea.* 2007;26:903-906.

232. de Monchy I, Gendron G, Miceli C, Pogorzalek N, Mariette X, Labetoulle M. Combination of the Schirmer I and phenol red thread tests as a rescue strategy for diagnosis of ocular dryness associated with Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:5167-5173.

233. Dogru M, Ishida K, Matsumoto Y, Goto E, Ishioka M, Kojima T, i sur. Strip meniscometry: a new and simple method of tear meniscus evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:1895-1901.

234. Shinzawa M, Dogru M, Miyasaka K, Shimazaki J, Sekiryu T. Application of CASIA SS-1000 Optical Coherence Tomography Tear Meniscus Imaging in Testing the Efficacy of New Strip Meniscometry in Dry Eye Diagnosis. *Eye Contact Lens.* 2018;44(1):44-49.

235. Negishi K, Ayaki M, Uchino M, Takei K, Tsubota K. Strip Meniscometry Correlates With Ocular Surface Tests and Symptoms. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9(12):31.

236. Schulze K, Großjohann R, Paul S, Bossaller L, Tost F. Schirmer's test and strip meniscometry: Comparative consideration in the diagnostics of dry eye. *Ophthalmologe.* 2021;118(6):561-568.

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

238. Versura P, Profazio V, Campos EC. Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Curr Eye Res.* 2010;35(7):553–564.

239. Jacobi C, Jacobi A, Kruse FE, Cursiefen C. Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology. *Cornea.* 2011;30(12):1289–1292.

240. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(10):4309–4315.
241. Keech A, Senchyna M, Jones L. Impact of time between collection and collection method on human tear fluid osmolarity. *Curr Eye Res.* 2013;38(4):428–436.
242. Braun RJ. Dynamics of the tear film. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 2012;44(4):267-297.
243. Newton I. ed. *Opticks: Or a Treatise of the Reflections, Refractions, Inflections and Colors of Light.* 2nd ed. London, Printed for William and John Innys at the West End of St. Paul's. 1718:168–206.
244. Arita R, Morishige N, Fujii T, Fukuoka S, Chung JL, Seo KY, et al. Tear Interferometric Patterns Reflect Clinical Tear Dynamics in Dry Eye Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(8):3928-34.
245. Norn MS. Semiquantitative interference study of fatty layer of precorneal film. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1979;57(5):766-74.
246. Guillon M, Styles E, Guillon JP, Maissa C. Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci.* 1997;74:273-279.
247. Finis D, Pischel N, Schrader S, Geerling G. Evaluation of lipid layer thickness measurement of the tear film as a diagnostic tool for Meibomian gland dysfunction. *Cornea.* 2013;32:1549–1553.
248. Szczesna DH, Iskander DR. Robust estimation of tear film surface quality in lateral shearing interferometry. *J Biomed Opt.* 2009;14:064039.
249. Petriček I. Handheld Tear Film Lipid Layer Thickness and Non Invasive Tear Break up Time Assessment Tool. *J Clin Ophthalmol Eye Disord.* 2017;1(2):1009.
250. Norn MS. Desiccation of the precorneal film. I. Corneal wetting-time. *Acta Ophthalmol.* 1969;47(4):865–80.
251. Smith J, Nichols KK, Baldwin EK. Current patterns in the use of diagnostic tests in dry eye evaluation. *Cornea.* 2008;27:656-662.

252. Korb DR, Greiner JV, Herman J. Comparison of fluorescein break-up time measurement reproducibility using standard fluorescein strips versus the Dry Eye Test (DET) method. *Cornea*. 2001;20(8):811-5.
253. Pult H, Riede-Pult BH. A new modified fluorescein strip: Its repeatability and usefulness in tear film break-up time analysis. *Cont Lens Anterior Eye*. 2012;35(1):35-8.
254. Rohit A, Willcox MDP, Stapleton F. Lipid supplements and clinical aspects of tear film in habitual lens wearers. *Optom Vis Sci*. 2017;94:174–182.
255. Kim KT, Kim JH, Kong YT, Chae JB, Hyung S. Reliability of a new modified tear breakup time method: dry tear breakup time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015;253(8):1355-61.
256. Paugh JR, Tse J, Nguyen T, Sasai A, Chen E, Thomas De Jesus M, i sur. Efficacy of the Fluorescein Tear Breakup Time Test in Dry Eye. *Cornea*. 2020;39:92–98.
257. Mou Y, Xiang H, Lin L, Yuan K, Wang X, Wu Y, i sur. Reliability and efficacy of maximum fluorescein tear break-up time in diagnosing dry eye disease. *Sci Rep*. 2021;11(1):11517.
258. Finnemore VM, Korb DR, Greiner JV, Herman JP. Fluorescein dye concentration as a factor in tear film fluorescence. *Adv Exp Med Biol*. 1998;438:875-8.
259. Johnson M, Murphy PJ. The effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea*. 2005; 24:811–817.
260. Elliott M, Fandrich H, Simpson T, Fonn D. Analysis of the repeatability of tear break-up time measurement techniques on asymptomatic subjects before, during and after contact lens wear. *Cont Lens Ant Eye*. 1998;21:98–103.
261. Yokoi N, Georgiev GA, Kato H, Komuro A, Sonomura Y, Sotozono C, i sur. Classification of fluorescein breakup patterns: A Novel method of differential diagnosis for Dry Eye. *Am J Ophthalmol*. 2017;180:72–85.
262. Shigeyasu C, Yamada M, Yokoi N, Kawashima M, Suwaki K, Uchino M, i sur. Characteristics and Utility of Fluorescein Breakup Patterns among Dry Eyes in Clinic-Based Settings. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(9):711.

263. Cho P, Leung L, Lam A, Choi A. Tear break-up time: clinical procedures and their effects. *Ophthalmol Physiol Opt.* 1998;18(4):319-24.
264. Braun RJ, Driscoll TA, Begley CG, King-Smith PE, Siddique JI. On tear film breakup (TBU): dynamics and imaging. *Math Med Biol.* 2018;35(2):145-180.
265. 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.
266. McMonnies CW. Tear instability importance, mechanisms, validity and reliability of assessment. *J Optom.* 2018;11(4):203-210.
267. Vanley GT, Leopold IH, Gregg TH. Interpretation of tear film breakup. *Arch Ophthalmol.* 1977;95(3):445-8.
268. Wang MT, Murphy PJ, Blades KJ, Craig JP. Comparison of non-invasive tear film stability measurement techniques. *Clin Exp Optom.* 2018;101(1):13-17.
269. Vidas Pauk S, Petriček I, Tomić M, Bulum T, Jandroković S, Kalauz M, i sur. Manual interferometric device for routine non-invasive tear film break-up time assessment. *Semin Ophthalmol.* 2021;36(3):94-102.
270. Nichols JJ, Nichols KK, Puent B, Saracino M, Mitchell GL. Evaluation of tear film interference patterns and measures of tear break-up time. *Optom Vis Sci.* 2002;79:363–369.
271. Lee JS, Salapatek A, Patel P, Soong F. Comparison of Non-Invasive Tear Break Up Times (NIBUT) Assessed With Video-Corneal Topography to the Standard Invasive TBUT as Studied in Patients After Exposure to Low Humidity Environment (LHE). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:525.
272. Best ND, Wolffsohn JS. Clinical evaluation of the Oculus keratograph. *Cont Lens Anterior Eye.* 2012;35:171-174.
273. Lee R, Yeo S, Aung HT, Tong L. Agreement of noninvasive tear break-up time measurement between Tomey RT-7000 Auto Refractor-Keratometer and Oculus Keratograph 5M. *Clin Ophthalmol.* 2016;10:1785–1790.

274. Yamaguchi M, Sakane Y, Kamao T. Noninvasive dry eye assessment using high-technology ophthalmic examination devices. *Cornea*. 2016;35:38–48.
275. Gumus K, Crocket CH, Rao K. Noninvasive assessment of tear film stability with the tear stability analysis system in tear dysfunction patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:456–461.
276. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res*. 1985;4:1-7.
277. Hong J, Sun X, Wei A, Cui X, Li Y, Qian T, i sur. Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea*. 2013;32:716-721.
278. 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; 59:13-22.
279. Terry RL, Schnider CM, Holden BA, Cornish R, Grant T, Sweeney D, i sur. CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optom Vis Sci*. 1993;70(3):234-43.
280. Kollock CW. Diseases and functional disorders of the eye, produced by normal and abnormal conditions of the sexual organs. *Trans S C Med Assoc*. 1888;97-102
281. Institute of Medicine (US) Committee on Understanding the Biology of Sex and Gender Differences: Exploring the Biological Contributions to Human Health: Does Sex Matter?, The National Academies Press, Washington, DC; 2001.
282. Sullivan DA, Rocha EM, Aragona P, Clayton JA, Ding J, Golebiowski B, i sur. TFOS DEWS II Sex, Gender, and Hormones Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):284-333.
283. Clayton JA, Davis AF. Sex/gender disparities and women's eye health. *Curr Eye Res*. 2015;40(2):102-9.
284. Bukhari AA, Basheer NA, Joharjy HI. Age, gender, and interracial variability of normal lacrimal gland volume using MRI. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2014;30:388-391.

285. Obata H, Yamamoto S, Horiuchi H, Machinami R. Histopathologic study of human lacrimal gland. Statistical analysis with special reference to aging. *Ophthalmology*. 1995;102:678–686.
286. Obata H. Anatomy and histopathology of the human lacrimal gland. *Cornea*. 2006;25:82-89.
287. McCarty CA, Bansal AK, Livingston PM, Stanislavsky YL, Taylor HR. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmology*. 1998;105:1114-1119.
288. Lamberts DW, Foster CS, Perry HD. Schirmer test after topical anesthesia and the tear meniscus height in normal eyes. *ArchOphthalmol*. 1979;97:1082–1085.
289. Chhadva P, McClellan AL, Alabiad CR, Feuer WJ, Batawi H, Galor A. Impact of Eyelid Laxity on Symptoms and Signs of Dry Eye Disease. *Cornea*. 2016;35:531–535.
290. Franceschi C, BonaFe M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, i sur. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann NY Acad Sci*. 2000;908:244–254.
291. Cohen AA. Complex systems dynamics in aging: new evidence, continuing questions. *Biogerontology*. 2016;17:205–220.
292. Vasanthakumar P, Kumar P, Rao M. Anthropometric analysis of palpebral fissure dimensions and its position in South Indian ethnic adults. *Oman Med J*. 2013;28(1):26-32.
293. Kunjur J, Sabesan T, Ilankovan V. Anthropometric analysis of eyebrows and eyelids: an inter-racial study. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2006;44(2):89-93.
294. Price KM, Gupta PK, Woodward JA, Stinnett SS, Murchison AP. Eyebrow and eyelid dimensions: an anthropometric analysis of African Americans and Caucasians. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124(2):615-623.
295. Claes P, Liberton DK, Daniels K, Rosana KM, Quillen EE, Pearson LN, i sur. Modeling 3D Facial Shape from DNA. *PLoS Genet*. 2014 Mar 20;10(3):e1004224.

296. Kesterke MJ, Raffensperger ZD, Heike CL. Using the 3D Facial Norms Database to investigate craniofacial sexual dimorphism in healthy children, adolescents, and adults. *Biol Sex Differ*. 2016;7:23.
297. Flament F, Francois G, Seyrek I, Saint-Leger D. Age-related changes to characteristics of the human eyes in women from six different ethnicities. *Skin Res Technol*. 2020;26(4):520-528.
298. Lambros V. Observations on periorbital and midface aging. *Plast Reconstr Surg*. 2007;120:1367-1376.
299. Lee H, Park M, Lee J, Lee ES, Baek S. Histopathologic findings of the orbicularis oculi in upper eyelid aging: total or minimal excision of orbicularis oculi in upper blepharoplasty. *Arch Facial Plast Surg*. 2012;14:253-257.
300. Okuda I, Irimoto M, Nakajima Y, Sakai S, Hirata K, Shirakabe Y. Using multidetector row computed tomography to evaluate baggy eyelid. *Aesthetic Plast Surg*. 2012;36:290-294.
301. Chong Y, Li J, Liu X, Wang X. Three-dimensional anthropometric analysis of eyelid aging among Chinese women. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2021;74(1):135-142.
302. Park DH, Choi WS, Yoon SH, Hong C. Anthropometry of asian eyelids by age. *Plast Reconstr Surg*. 2008 Apr;121(4):1405-1413.
303. Patil SB, Kale SM, Math M, Khare N, Sumeet J. Anthropometry of the eyelid and palpebral fissure in an Indian population. *Aesthet Surg J*. 2011;31(3):290-4.
304. Zoumalan CI, Lisman RD. Commentary on: Anthropometry of the eyelid and palpebral fissure in an Indian population. *Aesthet Surg J*. 2011;31(3):295-6.
305. Takahagi RU, Schellini SA, Padovani CR, Ideta S, Katori N, Nakamura Y. Oriental oculopalpebral dimensions: Quantitative comparison between Orientals from Japan and Brazil. *Clin Ophthalmol* 2008; 2(30):563-567.
306. Farkas LG. *Anthropometry of the Head and Face*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.

307. Barretto RL, Mathog RH. Orbital measurement in black and white populations. *Laryngoscope*. 1999;109:1051-1054.
308. Bozkir MG, Karakaş P, Oğuz O. Measurements of soft tissue orbits in Turkish young adults. *Surg Radiol Anat*. 2003. Apr;25(1):54-57.
309. Knezi N, Isaretovic V, Adjic I, Babic N, Maric D, Stojsic Dzunja Lj. Morphometric Analysis of the Palpebral Fissure and Canthal Distance in Serbian Young Adults. *Int J Morphol*. 2020;38(5):1381-1385.
310. Preechawai P. Anthropometry of eyelid and orbit in four southern Thailand ethnic groups. *J Med Assoc Thai*. 2011;94(2):193-199.
311. Takahagi RU, Schellini SA, Padovani CR, Ideta S, Katori N, Nakamura Y. Oriental oculopalpebral dimensions: Quantitative comparison between Orientals from Japan and Brazil. *Clin Ophthalmol*. 2008;2(30):563-567.
312. Vasanthakumar P, Kumar P, Rao M. Photogrammetric analysis of palpebral fissure dimensions and its position in Malaysian South Indian ethnic adults by gender. *N Am J Med Sci*. 2012;4(10):458-62.
313. Yu P, Nathan P, Meng CS. Periocular anthropometry of normal Chinese and Indian populations in Singapore. *JOJ Ophthalmol*. 2019;7(5):555722.
314. Kolar JC, Salter EM. *Craniofacial Anthropometry: Practical Measurement of the Head and Face for Clinical, Surgical and Research Use*. Springfield: Charles C. Thomas; 1997.
315. Weinberg SM, Raffensperger ZD, Kesterke MJ, Heike CL, Cunningham ML, Hecht JT, et al. The 3D Facial Norms Database: Part 1. A web-based craniofacial anthropometric and image repository for the clinical and research community. *Cleft Palate Craniofac J*. 2016;53:185-97.
316. Weinberg SM, Naidoo S, Govier DP, Martin RA, Kane AA, Marazita ML. Anthropometric precision and accuracy of digital three-dimensional photogrammetry: comparing the Genex and 3dMD imaging systems to one another and to direct anthropometry. *J Craniofac Surg* 2006;17:477-83.
317. Nunes TP, de Oliveira TF, Matayoshi S. A comparative study of the manual and digital measurements of the palpebral fissure. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(6):785-7.

318. Paugh JR, Chen E, Kwan J, Nguyen T, Sasai A, Thomas De Jesus M, i sur. Validation of the Modified Schein Dry Eye Symptom Questionnaire and Comparison With the Ocular Surface Disease Index. *Transl Vis Sci Technol.* 2022;11(2):27.
319. Sullivan BD, Crews LA, Messmer EM, Foulks GN, Nichols KK, Baenninger P, i sur. Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: Clinical implications. *Acta Ophthalmol.* 2014;92:161-166.
320. Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, Brock JA, Begley CG, Bereiter DA, i sur. TFOS DEWS II pain and sensation report. *Ocul Surf.* 2017;15:404-437.
321. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol.* 1997;124(6):723-8.
322. Uchino M, Dogru M, Yagi Y, Goto E, Tomita M, Kon T, i sur. The features of dry eye disease in a Japanese elderly population. *Optom Vis Sci.* 2006; 83(11):797-802.
323. Borrelli M, Frings A, Geerling G, Finis D. Gender-Specific Differences in Signs and Symptoms of Dry Eye Disease. *Curr Eye Res.* 2021;46(3):294-301.
324. Cho P, Brown B. Review of the tear break-up time and a closer look at the tear break-up time of Hong Kong Chinese. *Optom Vis Sci.* 1993;70(1):30-38.
325. Ozdemir M, Temizdemir H. Age- and gender-related tear function changes in normal population. *Eye (London).* 2010;24(1):79-83.
326. Meller D, Tseng SC. Conjunctivochalasis: literature review and possible pathophysiology. *Surv Ophthalmol.* 1998;43(3):225-32.
327. Rico-Del-Viejo L, Lorente-Velázquez A, Hernández-Verdejo JL, García-Mata R, Benítez-Del-Castillo JM, Madrid-Costa D. The effect of ageing on the ocular surface parameters. *Cont Lens Anterior Eye.* 2018;41(1):5-12.
328. Yeotikar NS, Zhu H, Markoulli M, Nils KK, Naduvilath T, Papas EB. Functional and morphologic changes of meibomian glands in an asymptomatic adult population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(10):3996-4007.
329. Murphy PJ, Lau JSC, Sim MML, Woods RL. How red is a white eye? Clinical grading of normal conjunctival hyperaemia. *Eye (Lond).* 2007;21(5):633-8.

330. Kaur S, Ho CY, Mutalib HA, Ghazali AR. The Relationship Between Tear Ferning Patterns and Non-invasive Tear Break-up Time in Normal Asian Population. *J Optom.* 2016;9(3):175-81.
331. Mohidin N, Bay TC, Yap M. Non-invasive tear break-up time in normal Malays. *Clin Exp Optom.* 2002;85(1):37-41.
332. Maïssa C, Guillon M. Tear film dynamics and lipid layer characteristics- effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010;33(4):176-82.
333. Mzumara T, Afonne J. Assessing the relationship between non-invasive tear break-up time and maximum blink interval values among young adults at Mzuzu University. *Clin Optom.* 2018;10:87-91.
334. Amaechi OU, Osunwoke CM. The relation between invasive and non-invasive tear break-up time in young adults. *J Niger Optom Assoc.* 2004;11:29–32.
335. Cho P, Yap M. Age, gender, and tear break-up time. *Optom Vis Sci.* 1993;70(10):828-31.
336. Höh H, Schirra F, Kienecker C, Ruprecht KW. Lid-parallel conjunctival folds are a sure diagnostic sign of dry eye. *Ophthalmologe.* 1995;92(6):802-8.
337. Read SA, Collins MJ, Carney LG, Iskander DR. The morphology of the palpebral fissure in different directions of vertical gaze. *Optom Vis Sci.* 2006;83(10):715-22.
338. Nakamori K, Odawara M, Nakajima T, Mizutani T, Tsubota K. Blinking is controlled primarily by ocular surface conditions. *Am J Ophthalmol.* 1997;124(1):24-30.
339. Carney LG, Hill RM. The nature of normal blinking patterns. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1982;60(3):427-33.
340. Collins MJ, Iskander DR, Saunders A, Hook S, Anthony E, Gillon R. Blinking patterns and corneal staining. *Eye Contact Lens.* 2006;32(6):287-93.
341. Rolando M, Refojo MF. Tear evaporimeter for measuring water evaporation rate from the tear film under controlled conditions in humans. *Exp Eye Res.* 1983;36:25-33.
342. Tiraknwichcha S, Lerdchanapornchai V, Reinprayoon U, Saonanon P, Snabboon T. Prevalence of dry eye disease in autoimmune thyroid disease and the association

of dry eye with clinical signs of thyroid associated ophthalmopathy: observational, noncomparative, cross-sectional study. *Asian Biomedicine*. 2017;10:133–138.

343. Kashkouli MB, Pakdel F, Kiavash V, Heidari I, Heirati A, Jam S. Hyperthyroid vs hypothyroid eye disease: The same severity and activity. *Eye*. 2011;25:1442–1446.

344. Gilbard JP, Farris RL. Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1983;61(1):108-16.

345. Ismailova DS, Fedorov AA, Grusha YO. Ocular surface changes in thyroid eye disease. *Orbit*. 2013;32(2):87-90.

346. Moura Brasil MVO, Moura Brasil OF, Perez Vieira R, Vaisman M, Moura Brasil O, Filho A. Tear film analysis and its relation with palpebral fissure height and exophthalmos in Graves' ophthalmopathy. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(5):615-8.

347. Iskeleli G, Karakoc Y, Abdula A. Tear film osmolarity in patients with thyroid ophthalmopathy. *Jpn J Ophthalmol*. 2008;52(4):323-326.

348. Pansell T, Porsblad M, Abdi S. The effect of vertical gaze position on ocular tear film stability. *Clin Exp Optom*. 2007;90(3):176-81.

349. Cho P, Douthwaite W. Tear breakup time and the effect of lifting the eyelid during its measurement. *Clin Exp Optom*. 1992;75(6):231-235.

350. Hosseini K, Bourque LB, Hays RD. Development and evaluation of a measure of patient-reported symptoms of blepharitis. *Health Qual Life Outcomes*. 2018;16:1-6.

351. Rolando M, Merayo-Llodes J. Management Strategies for Evaporative Dry Eye Disease and Future Perspective. *Curr Eye Res*. 2022;47(6):813-823.

352. Karakus S, Dai X, Zhu X, Gottsch JD. The role of lid margin structures in the meibomian gland function and ocular surface health. *Expert Rev Ophthalmol*. 2021;16(1):11-18.

353. Suzuki T, Kitazawa K, Cho Y. Alteration in meibum lipid composition and subjective symptoms due to aging and meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf*. 2021;S1542-0124(21)00120-8. doi: 10.1016/j.jtos.2021.10.003. [Online ahead of print]

354. Den S, Shimizu K, Ikeda T, Tsubota K, Shimmura S, Shimazaki J. Association between meibomian gland changes and aging, sex, or tear function. *Cornea*. 2006;25(6):651-655.

355. Hom MM, Martinson JR, Knapp LL, Paugh JR. Prevalence of Meibomian gland dysfunction. *Optom Vis Sci*. 1990;67(9):710-712.

11. KRATKA BIOGRAFIJA

Rođena je 9. studenog 1982. godine u Mostaru. Osnovnu školu i opću gimnaziju je završila u Pločama. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2007. godine. Pripravnički staž odradila je u KBC-u Zagreb. Nakon završetka staža radila je kao liječnik u Nastavnom zavodu za hitnu medicinu Grada Zagreba do 2011. godine kada započinje specijalizaciju iz oftalmologije u Klinici Svjetlost i Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb. Godine 2013. upisuje poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, a 2014. upisuje i završava pri istom fakultetu poslijediplomski specijalistički studij Oftalmologija i optometrija. Godine 2016. završava specijalizaciju iz oftalmologije na Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb, a 2017. polaže europski specijalistički ispit iz oftalmologije u Parizu te stječe titulu člana Europskog društva za oftalmologiju (eng. *Fellow of European Board of Ophthalmology*; FEBO). Godine 2012. sudjelovala je na stručnoj edukaciji iz dijabetičke retinopatije u Europskom edukacijskom centru iz oftalmologije pri Charles sveučilištu u Pragu. Sudjelovala je aktivno na kongresima Hrvatskog i Europskog društva za kataraktu i refraktivnu kirurgiju, Europskog udruženja očnih banaka te Društva za oftalmologiju južno-istočne Europe. Do sada je objavila četiri znanstvena rada u međunarodno citiranim časopisima.