

January 2009

Estabilidad de la película lagrimal precorneal

Myriam Teresa Mayorga C.

Universidad de La Salle, Bogotá, mimayorga@unisalle.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo>



Part of the [Eye Diseases Commons](#), [Optometry Commons](#), [Other Analytical, Diagnostic and Therapeutic Techniques and Equipment Commons](#), and the [Vision Science Commons](#)

Citación recomendada

Mayorga C. MT. Estabilidad de la película lagrimal precorneal. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul.* 2009;(2): 141-156. doi: <https://doi.org/10.19052/sv.1066>

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Estabilidad de la película lagrimal precorneal

Myriam Teresa Mayorga C.*

RESUMEN

Una película lagrimal estable es requisito indispensable para el adecuado funcionamiento óptico y metabólico del ojo. Alto porcentaje de condiciones asociadas con ojo seco, las complicaciones debidas al uso de lentes de contacto y, en general, las alteraciones de la lágrima están relacionadas con la inestabilidad de la película lagrimal. Por tanto, es importante conocer y entender los conceptos inherentes a la estabilidad lagrimal, los fenómenos involucrados en las diferentes teorías propuestas y las técnicas para evaluarla, para poder realizar diagnósticos más precisos

que permitan tratamientos efectivos. En esta revisión bibliográfica se presentarán diferentes modelos planteados para explicar de la estabilidad lagrimal y su inestabilidad con el fin de tener una visión más amplia de este importante fenómeno fisicoquímico algo desconocido y aún menos entendido por los profesionales de la salud visual y ocular.

Palabras clave: estabilidad de la película lagrimal, inestabilidad lagrimal.

* Optómetra Especialista en Lentes de Contacto Universidad de La Salle. Estudiante de Maestría en Ciencias de la Visión Universidad de La Salle. Docente investigadora Universidad de La Salle, Grupo de Investigación Óptica y Lentes de Contacto. Correo electrónico: mimayorga@unisalle.edu.co
Fecha de recepción: 2 de agosto de 2009.
Fecha de aprobación: 7 de septiembre de 2009.

Stability of the precorneal tear film

ABSTRACT

A stable tear film is prerequisite for the proper functioning optical and metabolic eye. High percentage of conditions associated with dry eye, complications due to use of contact lenses and alterations of the tear are generally related to the instability of the tear film. Therefore, it is important to know and understand the terms related to tear stability, phenomena involved in different proposed theories and techniques to evaluate it, in order to

make more accurate diagnosis, enabling effective treatments. Based on This literature review it will present models to explain the tear stability and instability to have a broader view of this important physico-chemical phenomenon unknown and even less understood by visual and ocular health professionals.

Keywords: tear film stability, tear instability.

ESTABILIDAD DE LA PELÍCULA LAGRIMAL PRECORNEAL

Frank Holly (2005), en un interesante artículo publicado en los *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, expone que la película lagrimal precorneal proporciona una superficie corneal refractiva y ópticamente funcional, lo cual es esencial para una imagen visual definida. Esta película, por su delgadez, es resistente a las fuerzas gravitacionales. Tiene que ser estable, de manera que siga siendo continua entre parpadeos consecutivos, y capaz de repararse a sí misma. Una película lagrimal continua y normal desempeña también un importante papel en la protección y el mantenimiento del bienestar de la superficie corneal y proporciona la lubricación adecuada para los párpados aun sin la capa lipídica superficial. Langmuir demostró que el comportamiento de las películas fluidas de espesor menor a 100 nm está totalmente controlado por las fuerzas de superficie. No hay flujo inducido por la gravedad en esas finas películas lo cual implica también que no se requiere una estructura gel rígida para mantener la película lagrimal en su sitio incluso en posición vertical. El principio más básico para la estabilidad de una película fluida fina es que la tensión superficial del sólido cubierto por la película tiene que ser menor que la de la superficie sólida en ausencia de la película. Este es un requerimiento estricto, ya que la película lagrimal in situ crea tres nuevas interfaces: la interfaz superficie ocular-lágrima, la interfaz lágrima-capla lipídica y la interfaz capa lipídica-aire, reemplazando a la interfaz previa superficie ocular-aire, cada una de ellas con su tensión interfásica. Este hecho había sido ya reconocido hace treinta años (Holly, 1973). Desde antes, los investigadores atribuían la estabilidad de la película lagrimal a la interacción proteínas-lípidos en la interfaz lágrima-capla lipídica. La tensión superficial de la interfaz líquido-aire es bastante baja y sería difícil disminuirla aún más. Sólo la superficie límite restante, la inter-

faz superficie ocular-lágrima, puede ser disminuida. Aquí, las glicoproteínas adsorbidas, y posiblemente los proteoglicanos, trabajando conjuntamente con el glicocálix (la antigua capa mucosa), pueden realmente disminuir la tensión libre interfásica, incluso por debajo de cero.

La estabilidad de la película lagrimal precorneal está dada, en términos generales, por:

- La integridad de su estructura (cantidad y calidad de sus componentes, uniformidad e integración).
- Normal distribución (expansión o esparcimiento) sobre el epitelio corneal para que lo humecte.
- Adecuado parpadeo (frecuencia, amplitud, etc.).

Las fuerzas fisicoquímicas necesarias para mantener y estabilizar la película lagrimal en la superficie epitelial corneal son:

1. Un espesor de la película menor que 100 μm para que sea independiente de la gravedad y se defina por fuerzas de superficie e interfaz.
2. Un coeficiente de expansión (E) (figura 1).

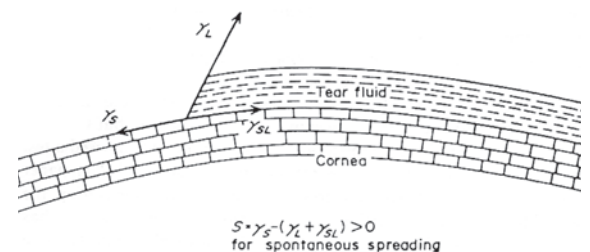


FIGURA 1. TENSIONES INTERFASIALES QUE DETERMINAN EL ESPARCIMIENTO DEL FLUIDO LAGRIMAL SOBRE LA CÓRNEA.

Fuente: Holly, 1990, citado por Davson, 1990, p. 793.

$E = S - (L + SL) > 0$, para expansión espontánea.

Donde E = expansión espontánea.

S = tensión superficial del sólido (epitelio).

L = tensión superficial del líquido (lágrima).

SL = tensión interfacial sólido-líquido (epitelio-lágrima).

Lo anterior significa que la película lagrimal permanece estable cuando la suma de la tensión superficial del fluido (fluido lagrimal) más tensión interfacial (entre caras) sólido (epitelio)-líquido (lágrima) es menor que la tensión superficial del sólido (epitelio) (Davson, 1990).

Según estos conceptos fisicoquímicos, la humectabilidad se aumenta:

- Elevando la tensión superficial del sólido.
- Disminuyendo la tensión superficial del líquido.
- Disminuyendo la tensión interfacial sólido-líquido.

La tensión superficial del fluido lagrimal en su superficie externa (capa lipídica), es de 35 dinas/cm aproximadamente; la tensión superficial del agua es de 70 dinas/cm más o menos. Esta considerable depresión de la tensión superficial (de 70 dinas/cm a 35 dinas/cm) se logra por la interacción de los componentes proteínicos de la lágrima (glicoproteína), con los lípidos meibomianos de la capa oleosa, y por la presión de película que ejerce la capa lipídica externa (la tensión superficial de la fase acuosa sola, sin interacción con lípidos es también alta, 39 dinas/cm) (Holly 1988, 1987).

Los lípidos meibomianos estabilizan la película lagrimal bajando su energía libre; ellos transportan el agua en la película durante su formación y localizan su fracción polar en la interface lípido-agua e interactúan con uniones lípidoproteicas en la faz acuosa, como la lipocalina lagrimal. La lipocalina, unida con otros componentes de lágrima, puede contribuir a la viscosidad alta, no-newtoniana de la película lagrimal y su baja tensión de superficie, características esenciales para la estabilidad lagrimal (Bron *et ál.*,

2004). Los lípidos proporcionan el 25% de disminución de la tensión superficial y una reducción entre 90% y 95% de la evaporación acuosa (Lozato *et ál.*, 2001). Sin embargo, Holly (2008) enfatiza en el papel de la capa lipídica como estabilizadora de la lágrima y cuestiona su papel en el retardo de la evaporación.

Las moléculas de lípidos son muy polares, con un grupo hidrofílico (usualmente ionizado) en uno de sus extremos (cabeza), unido a una larga cadena hidrocarbonada hidrofóbica (cola). Estas moléculas cubren la superficie acuosa con una capa compacta monomolecular perpendicular con los extremos hidrofóbicos hacia afuera y los extremos hidrofílicos hacia adentro, favoreciendo así la disminución de la tensión superficial del agua (Holly, 2008).

El epitelio corneal (sin mucina) presenta baja tensión superficial (28 dinas/cm); todas las membranas de las células epiteliales contienen lípidos que son hidrofóbicos, lo que dificulta su humectación, la capa de mucina que lo cubre lo vuelve hidrofílico, altera la tensión superficial del epitelio a 38 dinas/cm. La tensión interfacial mucosa-acuosa es muy difícil de medir, pero se supone muy baja, aproximadamente 1 dina/cm.

Según Holly (1990), las mismas glicoproteínas que pueden bajar la tensión superficial de la capa lipídica al menos tres veces son también capaces de disminuir la tensión interfacial epitelio-lágrima porque sus carbohidratos forman fuertes enlaces de hidrógeno a través de la superficie. De manera que estos componentes lagrimales operan potencialmente en ambos extremos de las interfaces de la película lagrimal. Este surfactante lagrimal, a diferencia de los surfactantes convencionales o detergentes, no daña la integridad de la capa oleosa ni del epitelio cuando disminuye sus tensiones.

Holly *et ál.* (1973, 1981) llegaron a formular la hipótesis según la cual el moco conjuntival producido por las células caliciformes y criptas mucosas des-

empeña el papel de surfactante (papel de activador de superficie) que permite la propagación espontánea de las lágrimas sobre la superficie ocular.

Sin embargo, Liotet *et ál.* (1987) refutan esta hipótesis y formulan una nueva sobre el agente surfactante lagrimal. Entre los hechos por los cuales Liotet no está de acuerdo con el papel de surfactante de la mucina de las células caliciformes están:

a. Las mucoproteínas del moco conjuntival humano tienen muy alto peso molecular, son unidades de glicoproteínas. Ellas forman simplemente gel insoluble. En ocasiones se observa este gel insoluble, en casos patológicos, cuando hay hipersecreción; este fenómeno a menudo ocurre en contactología y es observado como “secreción grasosa”.

b. La superficie corneal de humanos y mamíferos no contiene ninguna célula mucosa.

c. Ciertos mamíferos nunca parpadean y tienen película lagrimal perfecta; igual ocurre con los recién nacidos, cuya frecuencia de parpadeo es baja.

d. La secreción mucosa es granular y a menudo esta forma persiste en la conjuntiva.

e. Estudios citopatológicos de impresión conjuntival realizados de manera sistemática en ojos secos frecuentemente muestran un normal o elevado número de células caliciformes durante periodos de intensa sequedad.

Aduciendo estas y otras razones, Liotet *et ál.* (1987) suponen que la mucina de las células caliciformes no es la responsable de la surfactancia epitelial y proponen una nueva teoría; por microscopía electrónica se observa en el polo superior de las células de la superficie epitelial numerosas vesículas intracelulares cuyas dobles membranas vacuolares se incorporan dentro de la doble membrana celular, vaciando su

contenido filamentoso sobre la superficie epitelial. Su contenido es una mucoproteína particular, el glicocálix, que participa en el revestimiento celular y desempeña un papel fisiológico muy importante. Probablemente, numerosos filamentos de glicocálix se fijan a la membrana celular y microvellos, en sitios específicos.

Chen *et ál.* (1997), al estudiar la composición y estructura de la película precorneal en ratas, demostraron, mediante microfotografía de transmisión electrónica, que la película lagrimal parece ser una capa homogénea sobre la superficie corneal y el glicocálix densamente distribuido principalmente sobre los extremos de los microvellos. Asimismo, micrografías de transmisión electrónica evidencian el glicocálix presente entre las interdigitaciones de las células epiteliales y los microvellos (www.nature.com).

El teñido especial sugiere que la mucina de las células caliciformes no desempeña ningún papel en la adherencia de la capa mucosa a los microvellos. Ya Dilly (1985) opinaba que el glicocálix puede servir como “intermediario” en la fijación del moco en la superficie epitelial.

El glicocálix es una mucina de bajo peso molecular capaz de surfactar la membrana epitelial lipofílica, dadas sus propiedades hidrofílicas; está presente en todas las mucosas que están en contacto con un fluido biológico (Lupelli, 1988).

Las modernas teorías de la conformación y estructura lagrimal que describen la lágrima como un gel mucoacuoso con tres tipos de mucina, una producida por las células caliciformes (MUC 5AC), otras secretadas por los epitelios corneal y conjuntival, las transmembranales (MUC1, MUC2, MUC4), y la mucina MUC7 expresada por la glándula lagrimal, describen cómo el esparcimiento de esta faz mucosa sobre el epitelio facilita el esparcimiento del componente acuoso y lipídico de la película lagrimal (Watanabe, 2002).

Basados en el concepto anterior, Millar *et ál.* (2006) estudiaron el papel de la mucina en la estabilidad lagrimal por medio de la reducción de la tensión superficial. En la interfaz aire-líquido, la mucina baja la tensión superficial de la capa de lípidos meibomianos por interacción con éstos, produciendo una condensación de lípidos y un aumento del espesor de la película lagrimal. En la faz acuosa hay mayor concentración de mucinas en la superficie ocular y esta concentración va disminuyendo hacia la capa lipídica. Tiffany y Nagyova demostraron que en la interfaz aire-líquido los lípidos meibomianos y la lipocaína son importantes en la reducción de la tensión superficial. Millar y su equipo de investigadores asumen, entonces, que las mucinas estabilizan la capa lipídica basadas en la movilidad de los lípidos a través de la superficie que son muy móviles sin mucinas y en presencia de ellas disminuyen su movilidad significativamente.

INESTABILIDAD DE LA PL

La inestabilidad de la película lagrimal se debe a un imbalance de las fuerzas de superficie. Hasta hace unas décadas, se suponía que la desintegración de la película lagrimal precorneal se producía por un adelgazamiento de la fase acuosa (de 7µm a 4µm), debido principalmente a la evaporación (Ehler, 1965), quizás por discontinuidad de la faz lipídica y al flujo Marangoni (algunas veces llamado efecto Gibbs-Marangoni, que es la masa transferida en una capa líquida debido a diferencias de tensión superficial), que también influiría en el adelgazamiento de algunas áreas. Al acercarse las faces lipídica y mucosa por ese adelgazamiento acuoso, los lípidos meibomianos eran atraídos e interaccionaban con los fosfolípidos mucínicos, formando compuestos hidrófobos y, si no sobrevenía un nuevo parpadeo, se rompía la faz mucosa, apareciendo un punto de desecación localizado al azar, que aumentaba paulatinamente.

Holly (1981) modificó en parte esta teoría, a la que encontró errores naturales. Se sabe que solamente

cerca del 7% de la capa acuosa se evapora en un minuto bajo circunstancias normales, de manera que la evaporación total de la capa acuosa (7 µm) tomaría más de diez minutos, mientras que los primeros puntos secos aparecen en menos de un minuto luego de parpadear. El adelgazamiento se debe a la evaporación, el drenaje y la transferencia (a causa del incremento de osmolaridad del fluido lagrimal) y se reduce de 7 µm a 4 µm en un lapso de quince a cincuenta segundos. La superficie epitelial presenta gran número de protuberancias complejas, conocidas como micropliegues y microvellos que miden 0,5-1 mm de altura y 0,5 µm de diámetro; si, además de estas alteraciones epiteliales, se presentan depresiones localizadas en la película lagrimal, la distancia entre lípidos y mucina se acorta y produciría la contaminación de mucina por lípidos, que migran hacia abajo desde su localización inicial en la superficie de la película lagrimal, ayudados por corrientes verticales de convección, a través de las capas lagrimales, algunas veces llamada flujo de Marangoni, a tal grado que la capa mucosa llega a ser hidrofóbica en esa área, produciéndose un rompimiento de la película lagrimal inmediatamente; de esta manera, el fenómeno de la formación de puntos secos se debe a una no humectación y no a una desecación, como se suponía anteriormente (Gilbard, 1990).

Estas teorías sugieren que los lípidos disminuyen la capacidad de la capa acuosa de humectar el epitelio recubierto de mucina y suponen que los lípidos aumentan la tensión interfacial mucosa-acuosa en mayor cantidad que la que bajan la tensión superficial de la película lagrimal. Holly *et ál.* (1991) han propuesto, entonces, un mecanismo de ruptura de la película lagrimal basados en la presunción de que los lípidos presentes en la interfaz acuosa-aire migran rápidamente a la interfaz mucosa-acuosa y disminuyen la capacidad hidrofílica de la capa mucosa, creando así áreas localizadas de alta hidrofobicidad (Holly, 1988) (figura 2).

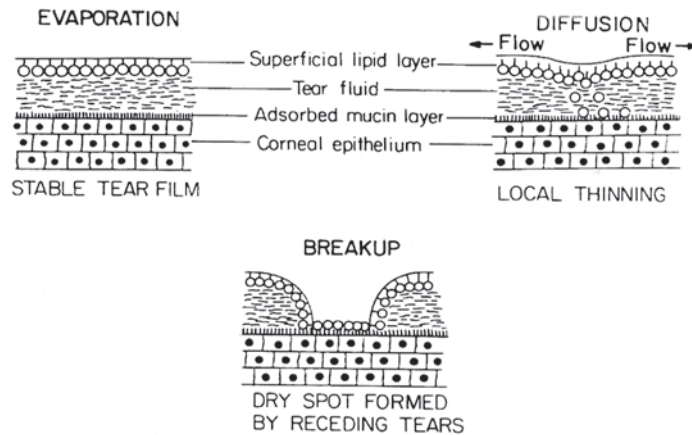


FIGURA 2. ADAPTACIÓN DEL ESQUEMA PROPUESTO POR HOLLY ET AL. PARA ROMPIMIENTO LAGRIMAL.

Fuente: *The CLAO Journal*. 4(17), p. 268.

Lin y Brenner (1982a, 1982b) proponen un mecanismo diferente del rompimiento lagrimal, basado en las fuerzas de dispersión. Este mecanismo correlaciona el tiempo de ruptura de la película lagrimal con el de la capa mucinosa que cubre el epitelio corneal. La capa mucosa, luego de un parpadeo, mide 0,02-0,04 μm de espesor, una capa tan delgada puede llegar a ser inestable y eventualmente se puede romper debido a las fuerzas de dispersión de Van der Waals que sobre ella actúan. La desestabilización y eventual ruptura de la capa mucosa exponen el epitelio, fundamentalmente hidrófobo, a la capa acuosa; es en estos sitios donde la película acuosa lagrimal se rompe rápidamente, lo que conlleva a la contaminación lipídica de la córnea y la formación de áreas deshumectadas que se van incrementando de manera paulatina.

Cualitativamente, el origen de las fuerzas de dispersión de Van der Waals entre dos átomos se debe a que el movimiento continuo de electrones crea un dipolo momentáneo en cada átomo, generando un campo eléctrico que polariza el otro átomo e induce un dipolo momentáneo en él; la interacción entre los dos dipolos resulta en la dispersión o atracción de

London–Van der Waals entre los dos átomos (Sharma y Ruckenstein, 1986).

Otra hipótesis sobre la formación de puntos secos la proporcionan Haberich y Lingelbach (1982): las células epiteliales corneales tienen lípidos en su membrana, éstos son muy hidrofóbicos y consecuentemente impermeables al agua. La faz acuosa lagrimal queda aprisionada entre la mucina, que está en contacto con el epitelio corneal, y los lípidos. La renovación del epitelio y la descamación celular forman zonas semejantes a cráteres a través de los cuales penetra el agua; esto permite que una zona lipídica entre en contacto directo con esos cráteres, produciendo ruptura de la película lagrimal.

Sharma y Ruckenstein (1985) hicieron algunas objeciones al modelo de Holly. Ellos expusieron que la concentración de lípidos en la interfaz lágrima–aire es la más alta inmediatamente luego de un parpadeo; los lípidos se difunden dentro de la capa acuosa debido al gradiente de concentración. Basados en el espesor de la capa acuosa ($L = 6 \text{ a } 9 \mu\text{m}$) y el coeficiente de difusión ($D = 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$), el tiempo de difusión ($T = L^2 / D$) será del orden de 10^{-2} segundos; de este modo, la capa acuosa es saturada de lípidos en menos de un

segundo luego de un parpadeo. Sin embargo, la solubilidad de los lípidos (ceras y ésteres de colesterol) es más bien baja en el medio acuoso. La adsorción de lípidos en la interfaz mucosa–acuosa es energéticamente desfavorable y, en consecuencia, su concentración en el volumen de la capa acuosa es más alta que la que prevalece en la vecindad de la interfaz mucosa–acuosa, cuya tensión interfacial es aumentada por el exceso de lípidos. Sin embargo, es improbable que este incremento moderado en la tensión interfacial mucosa–acuosa sea suficientemente alto para hacer no humectable la capa mucosa (en especial porque la tensión interfacial lágrima–aire es disminuida en presencia de lípidos). Adicionalmente, es posible observar que la presencia de lípidos no es necesaria para la ruptura de la película lagrimal, la cual se presenta aún en casos de una destrucción completa de los orificios de las glándulas meibomianas.

Tiffany *et ál.* (1978, 1989) demostraron una correlación negativa entre la tensión superficial de la lágrima y el rompimiento lagrimal en ojos normales: a mayor tensión superficial, menor TRL. Las alteraciones o la disminución de la capa lipídica lagrimal producen mayor evaporación de la lágrima, ocasionando hiperosmolaridad celular e inestabilidad lagrimal (Tiffany, 1985). La importancia de la capa lipídica en la estabilidad lagrimal en humanos fue demostrada por Craig *et ál.* (1997), quienes encontraron que una capa lipídica alterada se relaciona con una película lagrimal inestable y una mayor evaporación lagrimal.

La teoría de Liolet *et ál.* (1987) postula que el desarrollo de un punto seco sobre la córnea resulta de la incapacidad de las células epiteliales corneales para sintetizar el glicocáliz con la consecuente aparición de sitios específicos donde no hay fijación de proteína mucosa.

Watanabe (2002) y Millar *et ál.* (2006) destacan la importancia de las mucinas de las células caliciformes (MUC 5AC) y las transmembranales (MUC 1, 2 y 4)

en la estabilidad de la película lagrimal, disminuyendo la movilidad de los lípidos meibomianos.

King-Smith *et ál.* (2008) evaluaron la influencia de tres mecanismos (evaporación de la película lagrimal, el flujo hacia adentro del epitelio y el flujo tangencial a lo largo de la superficie epitelial, ayudado por el efecto Marangoni) en el adelgazamiento lagrimal y su rompimiento, y concluyeron que la evaporación era el factor que más favorecía el rompimiento lagrimal.

CAUSAS DE LA INESTABILIDAD LAGRIMAL

Independientemente del modelo adoptado para explicar la estabilidad lagrimal, las siguientes condiciones causan inestabilidad de la película lagrimal:

1. Alteración en el epitelio corneal (epiteliopatías).
2. Disfunción del parpadeo (frecuencia, calidad). La aparición de puntos secos depende de la frecuencia del parpadeo comparada con el intervalo de rompimiento lagrimal.
3. Alteraciones en la cantidad o calidad de las capas de la película lagrimal.
 - a. Capa mucosa:
 - Secreción cualitativamente anormal.
 - Escasa secreción mucosa.
 - Defecto en la limpieza y redistribución, generalmente mal parpadeo.
 - b. Capa acuosa:
 - Hiposecreción acuosa: el espesor de la capa es muy delgado, favoreciendo la contaminación lipídica de la mucina.
 - c. Capa lipídica:
 - Escasez de secreción: favorece la evaporación en mayor porcentaje; la presión de la película que ejerce sobre la película lagrimal disminuye.

- Exceso de secreción: generalmente asociada a la alteración cualitativa de los lípidos (mayor concentración de ácidos grasos libres que son altamente polares e interaccionan con las glicoproteínas mucínicas).

En resumen, el mecanismo de ruptura de la película lagrimal no se conoce definitivamente, las hipótesis incluyen:

- Deshumectación .
- Desecación local.
- Daños epiteliales.
- Ruptura de la capa mucina (por fuerza de Van der Waals).
- Flujo producido por gradiente de tensión superficial (flujo de Marangoni).
- Contaminación de la capa mucosa por lípidos, produciendo una superficie hidrofóbica.
- Incapacidad de células del epitelio corneal de sintetizar el glicocálix.
- Anormalidad en los niveles de mucinas lagrimales, sean conjuntivales o transmembranales.
- Alteración en la interacción mucina-capla lipídica.

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD LAGRIMAL

De los anteriores conceptos, se deduce que una buena estabilidad lagrimal es el resultado de la integración del volumen lagrimal, de su adecuada distribución

mediante el mecanismo de parpadeo y la resistencia ante condiciones adversas, lo que garantizaría una superficie corneal sana y un perfecto desempeño óptico y metabólico. Por consiguiente, en sentido funcional y clínico, es deseable tener apropiada estabilidad lagrimal antes que buen volumen lagrimal.

Las técnicas para evaluar la estabilidad lagrimal se pueden clasificar en invasivas o no invasivas, según se usen o no agentes en contacto con el ojo.

TÉCNICAS INVASIVAS TIEMPO DE ROMPIMIENTO LAGRIMAL (TRL) O BREAK UP TIME (BUT)

Esta técnica invasiva fue originalmente propuesta por Norn (1969) y popularizada por Lemp *et ál.* (1973). Se aplica fluoresceína en poca cantidad sobre la conjuntiva bulbar y se pide al paciente parpadear tres veces para distribuir uniformemente la mezcla de lágrima y fluoresceína y luego fijar adelante y no parpadear; mediante el biomicroscopio con filtro azul (para producir fluorescencia), magnificación entre 10X y 20X y moderada amplitud de la hendidura, se evalúa la superficie corneal, que presentará una coloración verde-amarilla pareja y se contabiliza el tiempo transcurrido entre el final del parpadeo y la aparición del primer punto seco, que se verá negro por la falta de luminiscencia, debido a la falta de lágrima fluoresceinada.



FIGURA 3. INESTABILIDAD DE LA PELÍCULA LAGRIMAL.

Fuente: <http://www.systane.com/Gritty-Eyes.asp>

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Se han encontrado variaciones considerables en los resultados de esta prueba de TRL. Norn (1969) halló un coeficiente de variación del 31% (3-142 seg.) y un valor medio de 30 seg.

TABLA 1. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE TIEMPO DE ROMPIMIENTO LAGRIMAL (TRL).

Autor	Resultado
Norn (1969)	30 seg.: 3-142 seg.
Vanley <i>et ál.</i> (1977)	5-100 seg.
Forst (1978)	4-62 seg.

Holly (1981) asume que tanta variabilidad se debe en gran parte a dos razones:

- a. Realización incorrecta poco cuidadosa de la técnica (factores de error).
- b. A los muchos factores que pueden causar inestabilidad lagrimal.

Un tiempo de ruptura menor de 10 segundos indica anormalidad de la estabilidad de la película lagrimal.

Es mejor repetir la prueba al menos dos veces y observar si el rompimiento se inicia siempre en el mismo sitio. Si esto ocurre, puede tratarse de anomalías de la superficie epitelial corneal en ese punto (Lupelli, 1988).

El TRL decrece con la edad y la temperatura ambiental alta, las corrientes de aire (Bennett 1989) y la exposición al humo del cigarrillo. Se asume que el TRL era menor en mujeres que en hombres, aunque Vanley (1979), Shapiro y Merind (1979) no hallaron diferencias significativas entre TRL en relación con el sexo (Lupelli, 1988). Este autor (1983) observó que un parpadeo fuerte y forzado disminuye el TRL (por la excesiva compresión del párpado sobre la película lagrimal). Por otra parte, el uso

de fluoresceína preservada con BAK o diluida con soluciones que contengan BAK como preservativo disminuye el TRL; por el contrario, sustancias con alta viscosidad (ej. mucomiméticas) aumentan el TRL (Bennett y Gordon, 1989). Patel *et ál.* (1988) demostraron variabilidad diurna de la estabilidad lagrimal, hallando mayor estabilidad hacia el medio día.

Vanley (1977) dedujo que la prueba del TRL era poco reproducible y cuestionó su aplicabilidad clínica. Por su parte, Patel (1985) añade que esta técnica requiere instilación de fluoresceína y que ésta por sí misma afecta la tensión superficial de la película lagrimal, por tanto, el TRL se alterará. Sin embargo, la prueba del TRL medido con fluoresceína puede ser aceptablemente reproducible si se controlan ciertos factores de error como:

- No manipular los párpados del paciente (baja el TRL), dejar que él abra y mantenga abiertos sus ojos normalmente.
- Evitar el uso de soluciones preservadas con BAK para diluir la fluoresceína (bajan el TRL), lo mismo que soluciones con alta viscosidad (aumentan el TRL).
- El paciente debe parpadear normalmente (a su frecuencia, amplitud y presión habituales) si se desea medir su TRL habitual (un parpadeo forzado baja el TRL).
- Controlar factores ambientales: humedad, corrientes de aire, temperatura.
- No realizar ningún examen que pueda alterar la película lagrimal o el epitelio (ej. tonometría, gonioscopia) antes de medir el TRL.
- Para efectos comparativos, tener en cuenta la hora del día a la que se realiza la prueba.

- Usar amplia abertura de la lámpara de hendidura para mayor cubrimiento del área corneal de observación.

MODIFICACIONES DE LA PRUEBA

Algunas variaciones útiles de la técnica son: usar fluoresceína en gotas (permite controlar la cantidad de fluoresceína y evitar sustancias de dilución); usar filtro amarillo #12 (Wratten #12-Kodak, por ejemplo) para mejorar el contraste con la fluoresceína; realizar la prueba varias veces, descartando los valores extremos y promediar los resultados. Lavar los fórnices con solución salina balanceada para remover residuos flotantes que puedan disrupir la película lagrimal. Stein (1990) propone realizar la prueba reduciéndose a un área corneal central de 6 mm. (porque supone que la película lagrimal es típicamente más estable en el centro que en las regiones superior e inferior), para mayor reproducibilidad y estandarización de la prueba. Una objeción a esta propuesta es que no evaluaría la condición de estabilidad real e íntegra del paciente. Como la prueba evalúa la calidad de la estabilidad lagrimal, puede considerarse como cualitativa y no cuantitativa (sus resultados son cuantitativos).

Una combinación del Schirmer y el TRL para evaluar la película lagrimal fue propuesta por Fanti y Holly; ellos sugirieron que habrá una película lagrimal adecuada si la suma de los valores del Schirmer y TRL es superior a 25 (Murube del Castillo, 1981).

STARING TEAR BREAK UP DINAMICS (S-TBUD)

Es una extensión del BUT, propuesta por Begley *et al.* (2006). El paciente debe completar el Cuestionario para ojo seco 2002 para determinar los síntomas oculares habituales y el Cuestionario de síntomas comunes para medir los síntomas de irritación ocular inmediatamente antes de la prueba. Se realiza el BUT pidiéndole al paciente que parpadee varias veces antes de que permanezca con el ojo abierto hasta sentir la necesidad de parpadear; el BUT se graba

en video y es analizado sobre el tiempo. Luego, el paciente llena el Cuestionario McGill para el dolor, en el cual se listan 78 adjetivos en 20 grupos que describen dolor e incomodidad para describir la sensación que ocurre mientras el ojo permanece abierto. Después de 5 minutos, la prueba se repite otras dos veces en el mismo ojo y luego tres veces en el otro ojo. Terminada la prueba, se repite el Cuestionario de síntomas comunes para capturar los síntomas posteriores a la prueba, con el fin de compararlos con los preprueba. Para ojos normales, se encontró un valor promedio de BUT de $8,5 \pm 6,4$ segundos y en ojo seco $5,2 \pm 2$ segundos; el intervalo de parpadeo en pacientes normales fue de $36,1 \pm 37,6$ segundos y en ojo seco $15,2 \pm 14$ segundos.

Utilizando el mismo sistema S-TBUD, Liu *et al.* (2006) estudiaron la progresión temporal y la repetición espacial del área del BUT y determinaron que en pacientes con ojo seco la película lagrimal se desestabiliza rápidamente después del parpadeo inicial, y que un BUT bajo se correlacionaba con áreas extensas de puntos secos; además, la región central corneal es la más susceptible en desestabilizarse.

TÉCNICAS NO INVASIVAS

Con el fin de incrementar la precisión y reproducibilidad de la medición de TRL, se han desarrollado métodos no invasivos para la valoración de la estabilidad de la PL (Stein, 1990). Los primeros que sugirieron la observación de una rejilla proyectada sobre la córnea fueron Lamble, Gilbert y Ashford (1976) y dieron origen a la evaluación no invasiva de la película lagrimal. Estos métodos se basan en la observación de los cambios en la imagen especular (primera imagen catóptrica o primera imagen de Purkinge) de un objeto luminoso proyectado en la córnea, producidos por la pérdida de integridad de la PL. La medición del TRL tradicional requiere de la instilación de fluoresceína, que afecta la tensión superficial de la PL y, por ende, altera el verdadero TRL. La variabili-

dad de los resultados de la prueba se debe, en parte, al uso de la fluoresceína como agente invasivo de la PL, incidiendo en rompimientos más rápidos de la lágrima. Mengher *et ál.* (1985b) demostraron que el tiempo de rompimiento lagrimal era menor cuando se usa fluoresceína, en comparación con el tiempo de ruptura usando técnicas no invasivas.

TÉCNICA DE PATEL ET AL.

Patel (1985) utilizó un queratómetro B & L. (miras Helmholtz). Enfocó la primera imagen catóptica producida por las minas del queratómetro; luego de un parpadeo completo, se contabilizó el tiempo transcurrido entre el final del parpadeo y la distorsión de la mira reflejada. Este lapso, que denominó TTT (tear thinning time), era un indicador de la estabilidad lagrimal: cuanto mayor el tiempo, mayor estabilidad de la PL. El promedio del TTT para ojos normales fue de $18 \pm 6,5$ segundos, pero no hay referencia a límites normales. Uno de los principales inconvenientes de esta técnica es que solamente permite evaluar una porción central corneal (más o menos 4mm), que es lo que abarcan las miras del queratómetro.

TÉCNICA DE MENGHER ET AL.

Mengher *et ál.* (1985a) proponen una técnica no invasiva para cuantificar el TRL. Es una técnica óptica cuyo instrumento consiste en una semiesfera de metal de 20 cm de radio con un enrejado de líneas blancas sobre fondo negro (oscuro) en la parte interna de la semiesfera; el patrón del enrejado es iluminado uniformemente por medio de un tubo de luz fluorescente que se acondiciona en el borde del aparato. El aparato se acopla a la lámpara de hendidura. El patrón reflejado desde la interfaz aire-lágrima se observa a través de la lámpara de hendidura con 6X. Una película lagrimal precorneal intacta producirá una imagen uniforme y regular del enrejado. La pérdida de integridad lagrimal producirá alteraciones de la imagen del enrejado: distorsión, pérdida de claridad y de continuidad. El tiempo en

segundos entre el último parpadeo y la aparición de alteraciones de la imagen del enrejado localizado al azar (pero sobre $\frac{3}{4}$ centrales de la superficie corneal, no sobre el $\frac{1}{4}$ externo que corresponde a la transacción corneal-límbo, donde generalmente hay distorsión) es tomado como el NIBUT (o tiempo de rompimiento lagrimal no invasivo). Para el 80% de los ojos examinados, el NIBUT fue mayor de 30 segundos. Los autores compararon el tiempo de rompimiento lagrimal con o sin fluoresceína y encontraron que era significativamente menor el tiempo de rompimiento, por lo que concluyeron que ésta aceleraba el rompimiento lagrimal (Mengher *et ál.* 1985b).

TÉCNICA DE LA REJILLA HIR-CALL (HIRJI-CALLANDER)

Se reemplazan las miras originales del queratómetro B&L por las rejillas HIR-CALL y se realiza la medida de manera similar a la técnica de Patel. La rejilla HIR-CALL es un enrejado en papel fotográfico negativo blanco y negro con un punto central de fijación. La rejilla se refleja sobre un área de 7 mm². Se encontraron valores promedios de 18,3 segundos $\pm 0,73$ para la faz de prerruptura de la PL (Hirji *et ál.* 1989).

TEARSCOPE KEELER PLUS®

La medida del NIBUT se puede realizar con el instrumento Tearscope® (Keeler) inventado por Jean Pierre Guillon (1998), instrumento que evalúa la película lagrimal en su apariencia, volumen y estabilidad de manera no invasiva. Se usan las rejillas adicionales, junto con el sistema de magnificación de una lámpara de hendidura. Se sitúa un test de rejilla en el Tearscope® y se pide al paciente, bien situado en la mentonera, que parpadee tres veces y mantenga el ojo abierto tanto tiempo como sea posible mientras fija la mirada en el centro de la rejilla. La iluminación debe ser moderada y la magnificación 10 X. Se determina el tiempo en el que se empieza a alterar el patrón de la rejilla. Se toman tres valores de NIBUT y se promedian (figura 4). El valor de referencia normal es de 17 segundos.

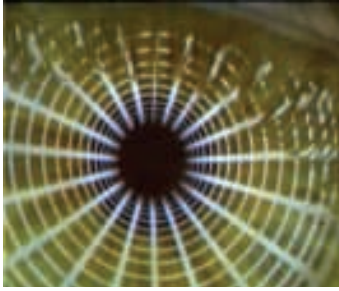


FIGURA 4. REJILLA DEL TEARSCOPE PROYECTADA SOBRE LA CÓRNEA PARA MEDICIÓN DEL NIBUT.

Fuente: Cortesía de Keeler®.

Ounnoughene *et ál.* (2006) realizaron una investigación analizando el tiempo de estabilización lagrimal después del parpadeo y los diferentes tipos de parpadeo, usando el Video-Tearscope (Vi-Te), que consiste en un registro numérico en video de la reflexión especular producida por el Tearscope Plus adaptado aun biomicroscopio, lo cual les permitió concluir que el sistema es una técnica promisoriosa para la evaluación de la estabilidad y fisiología lagrimal.

TMS-BUT:

Goto (2003) y su equipo de trabajo desarrollaron una novedosa técnica no invasiva para medir el rompimiento lagrimal usando el topógrafo corneal Tomey. Los cambios en imágenes topográficas indican áreas de rompimiento lagrimal. Las medidas son imprecisas, puesto que no se conoce realmente qué mide el topógrafo y si el parpadeo puede afectar los anillos de reflexión del aparato y la distribución lagrimal.

TEAR STABILITY ANALYSIS SYSTEM (TSAS)

Kojima *et ál.* (2004) diseñaron un *software* adicional al topógrafo para determinar la estabilidad lagrimal. El TSAS puede tomar diez topogramas consecutivos, uno por segundo por 10 segundos. Analizan el SRI, SAI y un nuevo índice de estabilidad lagrimal de asimetría y regularidad llamado TSRI y TSAI. Los autores demostraron que el programa es efectivo en la evaluación no invasiva de la estabilidad lagrimal.

LATERAL SHEARING INTERFEROMETER (LSI)

Szczesna *et ál.* (2007) describen un método no invasivo de evaluación de la estabilidad lagrimal usando un interferómetro lateral. Los patrones lagrimales encontrados son analizados usando la Técnica Rápida de Transformación de Fourier (Fast Fourier Technique, FFT). El método se basa en evaluar el grado de alteración del patrón calculando el segundo momento del espectro de Fourier del interferograma. Puede evaluar los cambios dinámicos en la superficie lagrimal a través del tiempo.

Otras técnicas no invasivas han sido usadas para la evaluación de la función lagrimal y su estabilidad, algunas combinan la meniscometría y la interferometría, otras utilizan la fluorofotometría y la meibometría; todas buscan mayor precisión en la apreciación del volumen, la estabilidad y la dinámica lagrimal (Yokoi *et ál.*, 2005).

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los conceptos expuestos, no existe hasta el momento ninguna teoría que explique completamente los fenómenos que intervienen en la estabilidad lagrimal. Como conclusión, se puede expresar respecto a la alteración de la estabilidad lagrimal que:

- Por ser la lágrima una película delgada (menor de 100 μm) su estabilidad se controla por fuerzas de superficie.
- Los lípidos lagrimales anormales disminuyen la capacidad de la capa acuosa de humectar el epitelio corneal, es decir, disminuyen la hidrofiliicidad de la capa acuosa.
- La película lagrimal adelgazada se rompe debido a las fuerzas de dispersión de Van der Waals; se produce ruptura de la mucina, lo que ocasiona hidrofobicidad del epitelio y permite la contaminación lipídica de la córnea.

- Si las células epiteliales no son capaces de sintetizar el glicocáliz, no existirá una buena fijación de mucina en el epitelio y éste será hidrofóbico y no permitirá la adecuada humectación lagrimal.
- Las mucinas de la película lagrimal (MUC 5AC de las células caliciformes, y las 1,2 y 4 transmembranales producidas por los epitelios conjuntival y corneal) desempeñan un papel importante en la estabilización lagrimal al interactuar con los lípidos meibomianos, favore-

ciendo su estabilidad mediante el control de su movilidad.

Quedan aún muchos aspectos por investigar de este fascinante fenómeno de la película lagrimal.

En relación con la evaluación de la estabilidad lagrimal, la tendencia es usar técnicas no invasivas, que proporcionan una evaluación más real de la película lagrimal.

REFERENCIAS

- Begley C., Himebaugh, N., Renner, D., Liu, H., Chalmers, R., Simpson, T. y Varikooty, J. (2006). Tear breakup dynamics: a technique for quantifying tear film instability. *Optometry & Visual Science*, 1(83), 15-21.
- Bennett, E. y Gordon, J. (1989). *The boderline dry-eye patient and C.L. wear*. Contact Lens Forum, July.
- Bron, A., Tiffany, J., Gouveia, S., Yokoi, N. Voon, L. (2004). Functional aspects of the tear film lipid layer. *Experimental Eye Research*, 78(3), 347-60.
- Chen, H., Yamabayashi, S., et ál. (1997). Structure and composition of rat precorneal tear film. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2(38).
- Craig, J. y Tomlinson, A. (1997). Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optometry and Vision Science*, 74, 8-13.
- Davson, H. (1990). *Physiology of the eye*. Nueva York: Pergamon Press.
- Dilly, P. (1985). Contribution of the epithelium to the stability of the tear film. *Transactions of the Ophthalmological Society*, 104, 381-389.
- Ehler, N. (1965). The precorneal tear film. Biomicroscopical, histopathological and chemical investigations. *Acta Ophthalmologica Suply*, 81, 136.
- Gilbard J. (1986). Tear film physiology and evaluation relevant to contact lens wear. *The CLAO guide to basic science and clinical practice*, 16(1),1-17.
- Guillon, J. (1998). Non-invasive tearscope plus routine for contact lens fitting. *Contac Lens And Anterior Eye*, 21, S31-S40.
- Goto, T., Zheng, X., Klyce, S., Kataoka, H., Uno, T. Karon, M., Tatematsu, Y., Bessyo, T., Tsubota, K. y Ohashi, Y. (2003). A new method for tear film stability analysis using videokeratography. *American Journal of Ophthalmology*, 135, 607-612.
- Haberich, J. y Lingelbach, B. (1982). Kritische übersicht unsere kenntnisse und vorstellung einer neuen arbeitshypothese über die stabilität des präkornealen tränenfilms (PKYF), *Augenheilk*, 180, 115-125.
- Hill, R., y Carney, L. (1980). Human tear responses to alkali. *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 19(2), 208-210.
- Hirji, N., Patel, S. y Callander, M. (1989). Human tear film pre-rupture phase time a non-invasive technique for evaluating the pre-corneal tear film using a novel keratometer mire. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 9, 139-142.

- Holly, F. (1973). Formation and stability of the tear film. *International Ophthalmology Clinic*, 13, 73-96.
- Holly, F. (1981). Tear film physiology and contact lens wear I-II. *American Journal of Optometry & Physiological Optics*, 4(58), 324-341.
- Holly, F. (1988). *Basic factors underlying the formation and stability of preocular tear film*. World Congress on the Cornea III. Nueva York: Faven Press.
- Holly, F. (1990). En H. Davson, *Physiology of the Eye* (p. 79). Pergamon Press, Nueva York. Quinta Edición.
- Holly, F., Lemp, M. et ál. (1991). *CLAO Journal*, 17, 268.
- Holly, F. (2005). La película lagrimal; una parte del ojo pequeña pero altamente compleja. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 2(80). Extraído desde www.oftalmo.com/se/archivos
- Holly, F. (2008). Lipid layer significantly retards evaporation. *Fallacy*, 5. Extraído en julio de 2009 desde www.dryeyezone.com/talk/showthread.php?t=5247 <http://www.systane.com/Gritty-Eyes.asp>
- Holly, F. et ál. (1991). *CLAO Journal*, 17, 268.
- King-Smith, P. Nichols, E., Jason, J., Nichols, K., Fink, B. y Braun, R. (2008). Contributions of evaporation and other mechanisms to tear film thinning and breakup. *Optometry and Vision Science*, 8(85), 623-630
- Kojima, T., Ishida, R., Dogru, M., Goto, E., Takano, Y., Matsumoto, Y., Kaido, M., Ohashi, Y. y Tsubota, K. (2004). A new noninvasive tear stability analysis system for the assessment of dry eyes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 45, 1369-1374
- Lamberts, D. (1987) *Physiology of the tear film*. In: The Cornea: Scientific Foundations and Clinical Practice," Boston pp. 38-52
- Lamble, J., Gilbert, D. y Ashford, J. (1976). The break-up time of artificial pre-ocular films on the rabbit cornea. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64, 441-4.
- Lemp, M. (2005). Tear film evaluation. *Cornea*. En J. Krachmer, M. Mannis y E. Holland, *Cornea. Fundamentals, diagnosis and management* (225-228). Philadelphia: Elsevier Mosby.
- Lemp, M. y Holly, F. (1970). Recent advances in ocular surface chemistry. *American Journal of Optometry, Archives of American Academy of Optometry*, 47, 669-672.
- Lemp, M. y Hamill, J. (1973). Factors affecting tear film break up time in normal eyes. *Archives of Ophthalmology*, 89, 103-105.
- Lin, S. y Brenner, H. (1982a). Marangoni convection in a tear film. *Journal of Colloid Interface Science*, 85, 59-65.
- Lin, S. y Brenner, H. (1982b). Tear film rupture. *Journal of Colloid Interface Science*, 89, 226-321.
- Liotet, S. et ál. (1987). A new hypothesis on tear film stability. *Original papers ophthalmologica Basel*, 195, 119-124.
- Liu, H., Begley, C., Chalmers, R., Wilson, G., Srinivas, S. y Wilkinson, J. (2006). Temporal progression and spacial repeatability of tear breakup. *Optometry & Visual Science*, 1(83), 723-730
- Lozato, P., Pisella, P. y Baudouin, C. (2001). The lipid layer of the lacrimal tear film: physiology and pathology. *Journal of French Ophthalmology*, 24(6), 643-58.
- Lupelli, L. (1988). A review of lacrimal function test in relation to contact lens practice. *Contact lens Journal*, 18, 4-19.
- Mengher, L., Bron, A., Tonge, S. y Gilbert, D. (1985a). A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear stability. *Current Eye Research*, 1(4), 7.
- Mengher, L. et ál. (1985b). Effect of fluorescein instillation on the PCTF stability. *Current Eye Research*, 1(4), 9-12.

- Micrografía de transmisión electrónica. En: www.nature.com/eye/journal/v18/n5/fig_tab/6700693f1.html
- Millar, T., Tragoulias, S., Anderton, P., Ball, M., Miano, F., Dennis, G. y Mudgil, P. (2006). The surface activity of purified ocular mucin at the air-liquid interface and interactions with meibomian lipids. *Cornea*, 25(1), 91-100.
- Mishima, S. (1965). Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Archives of ophthalmology*, 73, 233-241.
- Murube del Castillo, J. (1981). *Dacriología básica*. España: Universidad La Laguna.
- Norn, M. (1969). Dissection of the precorneal tear film. *Acta Ophthalmology*, 47, 865-880.
- Ounnoughene, Y., Benhatchi, N., Agboke J., Beauchet, A. y Baudouin, C. (2006). The video tearscope: a new method for evaluating lacrimal film in vivo. *Journal Francais d'Ophthalmologie*, 29(5), 476-84.
- Patel, S. et al. (1985). Effects of fluorescein on BUT and TTT. *American Journal of Optometry & Physiological Optics*, 3(62), 188-190.
- Patel, S. et al. (1988). Diurnal variation in PCTF stability. *American Journal of Optometry & Physiological Optics*, 3(65), 151-154.
- Sharma, A. y Ruckenstein, E. (1985). Mechanism of tear film rupture and its implications for contact lens tolerance. *American Journal of Optometry & Physiological Optics*, 4(62), 246-253.
- Sharma, A. y Ruckenstein, E. (1986). Mechanism of tear film rupture and formation of dry spot on cornea. *Journal of Colloid Interface Science*, 92.
- Stein, H. (1990). *Fitting guide for rigid and soft contact lenses*. St. Louis, Missouri: Mosby Company.
- Szczesna, D., Kasprzak, H. y Jaronski, R. (2007). An interferometric method for the dynamic evaluation of the tear film. *Acta Ophthalmologica Scandinavica J*, 85, 202-208.
- Terry, R. (1992). *An introduction to the ocular tear film and its assessment*. C.C.L.R.U. The tears of wine. Extraído desde web.mit.edu/1.63/www/Lec-notes/Surfacetension/Lecture4.pdf
- Tiffany, J. (1985). The role of meibomian secretions in the tears. *Transactions of the Ophthalmological Society*, 104, 396-401.
- Tiffany, J. y Bron, A. (1978). Role of the tears in maintaining corneal integrity. *Transactions of the Ophthalmological Society*, 98, 335-338.
- Tiffany, J., Winter, N. y Bliss, G. (1989). Tear film stability and tear surface tension. *Current Eye Research*, 8, 507-505.
- Vanley, G., Leopold, I. y Gregg, T. (1979). Interpretation of BUT. *Archives of Ophthalmology*, 95, 445-448.
- Van der Vaals. <http://www.fortunecity.com/campus/dawson/196/waals.htm#LONDON>
- Watanabe, H. (2002). Significance of mucin on the ocular surface. *Cornea*, 21, S17-S22.
- Yokoi, N., Komuro, A., Maruyama, K. y Kinoshita S. (2005). New instruments for dry eye diagnosis. *Seminars in Ophthalmology*, 20(2), 63-70.