

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA**



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio de las propiedades ópticas de las glándulas de  
Meibomio**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Elena Fernández Jiménez**

**DIRIGIDA POR**

**María Asunción Peral Cerdá**  
**José Antonio Gómez Pedrero**

Madrid

© Elena Fernández Jiménez, 2025

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA



**TESIS DOCTORAL**

**ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS GLÁNDULAS DE  
MEIBOMIO**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**ELENA FERNÁNDEZ JIMÉNEZ**

**Directores**

**Dra. María Asunción Peral Cerdá**

**Dr. José Antonio Gómez Pedrero**

**MADRID 2024**



# **UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

Doctorado de Óptica, Optometría y Visión



## **TESIS DOCTORAL**

### **ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**ELENA FERNÁNDEZ JIMÉNEZ**

**Directores**

**Dra. María Asunción Peral Cerdá**

**Dr. José Antonio Gómez Pedrero**

**MADRID 2024**





## **AGRADECIMIENTOS**

Los logros verdaderamente importantes no radican solo en el resultado final, sino en el camino recorrido, lleno de desafíos, aprendizajes y, sobre todo, de las personas que nos acompañan, quienes le dan verdadero sentido y hacen que el trayecto valga la pena. A todas ellas dedico estas palabras.

A mis tutores, Sunti y Jose, les estoy enormemente agradecida por su dedicación, confianza y guía constante. Su experiencia y apoyo han sido pilares esenciales en el desarrollo de esta investigación y en mi crecimiento académico y personal.

A Elena, que empezó siendo una compañera y terminó siendo una amiga. Gracias por tu apoyo, tus consejos y por hacer que este camino fuera mucho más llevadero. Sin ti nada de esto hubiera sido posible.

A mis amigas, las que siempre están a mi lado, gracias por ser una parte fundamental en mi vida y por hacer que todo sea más fácil.

A Joni, gracias por tu paciencia infinita, por estar a mi lado en los días más difíciles y por creer en mí cuando yo no lo hacía.

A mi familia, en especial a mi madre y Paqui, por estar siempre ahí, apoyándome sin condiciones, su cariño infinito y su confianza en mí, gracias a ellas soy la persona que soy actualmente.

# INDICE

AGRADECIMIENTOS .....	6
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS .....	11
INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS .....	14
RESUMEN .....	18
ABSTRACT .....	20
ESTRUCTURA DE LA TESIS DOCTORAL.....	22
<i>CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN.....</i>	<i>24</i>
<b>1.1 Glándulas de Meibomio: .....</b>	<b>24</b>
<b>1.2 Anatomía de las glándulas de Meibomio.....</b>	<b>25</b>
<b>1.3 Forma de secreción de las glándulas de Meibomio .....</b>	<b>27</b>
<b>1.4 Alteraciones relacionadas con las GM.....</b>	<b>28</b>
<b>1.4.1 Blefaritis .....</b>	<b>28</b>
<b>1.4.2 Disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM).....</b>	<b>29</b>
<b>1.5 Influencia de las lentes de contacto en las GM .....</b>	<b>35</b>
<b>1.6 Meibografía .....</b>	<b>35</b>
<b>1.6.1 Meibografía de contacto.....</b>	<b>36</b>
<b>1.6.2 Meibografía sin contacto .....</b>	<b>37</b>
<b>1.6.3 Otras técnicas para la observación de las GM.....</b>	<b>37</b>
<b>1.7 Análisis de la meibografía .....</b>	<b>38</b>
<b>1.7.1 Métodos objetivos de evaluación de las GM.....</b>	<b>40</b>
<b>1.7.2 Clasificación de imágenes meibográficas mediante IA .....</b>	<b>40</b>
<b>1.8 Ciclos circadianos y secreción lagrimal.....</b>	<b>41</b>
<i>CAPITULO 2: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA TESIS</i>	
<i>DOCTORAL .....</i>	<i>43</i>
<b>2.1 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>43</b>

2.2 HIPOTESIS.....	44
2.3 OBJETIVOS .....	45
<b>CAPÍTULO 3: ESTUDIOS PRELIMINARES</b> .....	47
3.1 INTRODUCCIÓN .....	47
3.2 FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN Y CONTEXTO DE ESTUDIOS REALIZADOS .....	48
3.2.1 Desarrollo y funcionamiento del meibógrafo de luz visible VisMeib .....	50
3.3 ESTUDIO DE LOS CONTRASTES DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO .....	54
3.3.1 Objetivo del estudio .....	54
3.3.2 Material y métodos .....	54
3.3.3 Imágenes meibográficas para el análisis del contraste.....	55
3.3.4 Análisis estadístico.....	55
3.3.5 Resultados clínicos.....	55
3.3.6 Resultados del contraste de las glándulas de Meibomio .....	56
3.3.7 Conclusiones del estudio .....	58
3.4 ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DEL FILTRO DENTRO DEL ESPECTRO VISIBLE QUE MEJOR CONTRASTE APORTA PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO.....	59
3.4.1 Objetivo del estudio .....	59
3.4.2 Metodología del estudio.....	59
3.4.3 Análisis estadístico.....	60
3.4.4 Resultados .....	61
3.4.5 Conclusiones.....	62
3.5 ESTUDIO PARA LA VALIDACIÓN DEL FILTRO DE 610 NM POR COMPARACIÓN CON LAS IMÁGENES OBTENIDAS POR EL K5M .....	63
3.5.1 Objetivo del estudio.....	63
3.5.2 Metodología y desarrollo del estudio .....	64

3.5.3 Imágenes de meibografía y clasificación subjetiva.....	64
3.5.4 Análisis estadístico.....	65
3.5.5 Resultados .....	65
3.5.6 Conclusiones.....	69
<b>3.6 CONCLUSIONES GENERALES DE LOS ESTUDIOS DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO .....</b>	<b>70</b>
<b><i>CAPÍTULO 4: EVALUACIÓN DE UN INSTRUMENTO MÓVIL PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO .....</i></b>	<b>71</b>
4.1. INTRODUCCIÓN .....	71
4.2 METODOLOGÍA.....	72
4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	77
4.4 RESULTADOS .....	77
4.5 DISCUSIÓN .....	81
<b><i>CAPÍTULO 5: EVALUACIÓN AUTOMÁTICA DE IMÁGENES DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO UTILIZANDO APRENDIZAJE PROFUNDO – DEEP LEARNING- .....</i></b>	<b>84</b>
5.1 INTRODUCCIÓN .....	84
5.2 METODOLOGÍA.....	86
5.3 RESULTADOS .....	93
5.3.1 Resultados de las pruebas clínicas.....	94
5.3.2 Resultados de la clasificación.....	95
5.4 DISCUSIÓN .....	98
<b><i>CAPITULO 6: ESTUDIO DE LOS CONTRASTES A LO LARGO DEL DÍA .....</i></b>	<b>101</b>
6.1 INTRODUCCIÓN .....	101
6.2 METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL ESTUDIO .....	101
6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	105
6.4 RESULTADOS .....	105
6.4.1 Resultados clínicos.....	106

<b>6.4.2 Resultados de los contrastes</b> .....	110
<b>6.5 DISCUSIÓN</b> .....	121
<b>CAPITULO 7: DISCUSION INTEGRADORA</b> .....	125
<b>CAPITULO 8: CONCLUSIONES</b> .....	128
<b>CAPITULO 9: LIMITACIONES Y TRABAJO FUTURO</b> .....	129
<b>9.1 LIMITACIONES</b> .....	129
<b>9.2 TRABAJO FUTURO</b> .....	130
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	132
<b>ANEXOS</b> .....	142
<b>A.1 Aprobación del comité de ética</b> .....	142
<b>A.2 Consentimiento informado para los participantes del estudio</b> .....	144
.....	146
<b>A.3 Cuaderno de recogida de datos</b> .....	148
.....	160
<b>A.4 Escalas de gradación utilizadas para valorar y cuantificar los signos clínicos</b> .....	161
<b>A.5 Asistencia a congresos en los que se han expuesto temas en relación con esta     tesis doctoral</b> .....	162
<b>A.6 Artículos y patentes publicados relacionados con la tesis doctoral y registro     de la propiedad intelectual/ patente</b> .....	164
<b>A.7 Resultados capítulo 3:</b> .....	166

## **ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

**ANOVA:** análisis de varianza

**CCD:** Charge-Couple Device (Dispositivo de carga acoplada)

**CCI:** Coeficiente de Correlación Intraclase

**CIN:** Contraste dentro de una glándula de Meibomio

**CINTER:** Contraste entre dos glándulas de Meibomio

**CLAHE:** Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization

**CLDEQ-8:** Contact Lens Dry Eye Questionnaire (cuestionario de ojo seco para usuarios de lentes de contacto)

**CMOS:** Complementary Metal Oxide Semiconductor (semiconductor complementario de metal óxido)

**CNNS:** Redes neuronales convolucionales

**CoR:** Coeficiente de Repetibilidad

**DEQ-5:** Dry Eye Questionnaire (cuestionario de ojo seco)

**DL:** Deep learning (aprendizaje profundo)

**DGM:** Disfunción de las Glándulas de Meibomio

**ES:** Effect size (tamaño del efecto)

**ETDRS:** Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (Estudio del tratamiento precoz de la retinopatía diabética)

**GM:** Glándulas de Meibomio

**IA:** Inteligencia Artificial

**IR:** Infrarrojo

**K5M:** Oculus Keratograph 5M<sup>TM</sup>

**K5M C:** Meibografías tomadas con Oculus Keratograph 5M<sup>TM</sup> con contraste añadido por el propio dispositivo

**K5M R:** Meibografías tomadas con Oculus Keratograph 5M<sup>TM</sup> sin contraste añadido

**K5M RC:** Meibografías tomadas con el Oculus Keratograph 5M™ con contraste añadido de forma externa

**LC:** Lentes de Contacto

**LED:** Light Emitting Diode (Diodo emisor de luz)

**MGD-14:** Meibomian gland dysfunction (cuestionario relacionado con la disfunción de las glándulas de Meibomio)

**ML:** Machine Learning (aprendizaje automático)

**NSQ:** Núcleo Supraquiasmático

**OCT:** Optical Coherence Tomography (Tomógrafo de Coherencia Óptica)

**OI:** Observador I

**OII:** Observador II

**OIII:** Observador III

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**OSDI:** Ocular Surface Disease Index (índice de enfermedad de la superficie ocular)

**PI:** Párpado inferior

**PS:** Párpado superior

**RG:** Área relativa que ocupan las glándulas de Meibomio en la extensión total del párpado

**RGB:** Rojo, Verde y Azul (*Red, Green, Blue*), modelo de color basado en la mezcla de estos tres colores primarios de luz.

**RLG:** Anchura relativa de las glándulas de Meibomio

**ROI:** Region Of Interest (Región de interés)

**S1:** Sesión 1

**S2:** Sesión 2

**T1:** Meibografía tomada en el tiempo 1

**T2:** Meibografía tomada en el tiempo 2

**T3:** Meibografía tomada en el tiempo 3

**TBUT:** Tear Break Up Time (tiempo de ruptura lagrimal)

**UV:** Ultravioleta

**VAS:** Visual Analogue Scale (Escala visual analógica)

**VisMeib:** Meibografo de no contacto con luz visible y filtros pasa banda

**$\delta$ CIN:** contraste dentro de una glándula de Meibomio, medido con la ecuación de Yeh

**$\delta$ CINTER:** contraste entre dos glándulas de Meibomio, medido con la ecuación de Yeh

## INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

### FIGURAS:

Figura 1: esquema de la morfología de las glándulas de meibomio, imagen modificada de Knop y Knop, 2009.

Figura 2: esquema de una glándula de Meibomio donde se muestran las diferentes estructuras anatómicas implicadas en la secreción del meibum. Las flechas indican las fuerzas ejercidas por la musculatura orbicular para la secreción del meibum y por el musculo de Riolo para el cierre selectivo del conducto glandular.

Figura 3: clasificación de la disfunción de las GM.

Figura 4: imágenes de meibografía obtenidas con el Oculus keratograph 5M™, del párpado superior e inferior de un paciente con patología (izquierda) y un paciente control (derecha).

Figura 5: meiboescala de Pult y Riede-Pult. Figura tomada de la referencia.

Figura 6: esquema del dispositivo experimental para la visualización de las GM.

Figura 7: variación coeficiente de extinción molar de la oxihemoglobina (azul) y la hemoglobina (rojo) en función de la longitud de onda.

Figura 8: fotografía del meibógrafo de luz blanca (VisMeib) a la derecha.

Figura 9: a) Captura de pantalla de la aplicación antes de procesar la imagen cargada. b) La misma imagen tras el procesamiento de la región de interés (ROI) que incluye las ocho glándulas centrales.

Figura 10: imágenes meibográficas del PS y PI con K5M pertenecientes a un mismo participante del grupo control. En las imágenes se observan los tres tipos de contraste analizados: K5M C (izquierda); K5M R (centro); K5M RC (derecha).

Figura 11: medidas de CIN y CINTER utilizando el contraste de Michelson

Figura 12: fotografía de los filtros empleados para la captura las imágenes con el meibógrafo de luz visible (VisMeib)

Figura 13: imagen de los dos dispositivos estudiados. A la derecha se muestra el K5M y en la izquierda el VisMeib.

Figura 14: análisis de repetibilidad, gráficos de Bland-Altman. Control K5M (A), Control VisMeib (B), Patología K5M(C), Patología VisMeib (D). Los números entre paréntesis representan la cantidad de casos/imágenes que coinciden en un mismo punto. (Las líneas horizontales superior e inferior representan el 95 % del intervalo de confianza).

Figura 15: gráfico de Bland-Altman para la correlación entre K5M-VisMeib. Gradación realizada por el observador I en la sesión 1. (A) Grupo control, (B) Grupo patología. Los números entre paréntesis representan la cantidad de casos que coinciden en un mismo punto.

Figura 16: imágenes de las GM con dos meibógrafos, en la parte inferior de la figura las imágenes capturadas con el VisMeib y en la parte superior con el K5M.

Figura 17: sistema experimental para la captura de las meibografías.

Figura 18: procesado de una fotografía capturada con el dispositivo móvil.

Figura 19: Gráfica de Bland-Altman para el grupo control.

Figura 20: Gráfica de Bland- Altman para el grupo con alteración de las GM

Figura 21: diagrama de flujo de los participantes totales reclutados para el estudio

Figura 22: Esquema que muestra la estructura de una CNN estándar. Está formada por una capa de entrada, varias capas de procesamiento de la 1 a la N, y una capa final para clasificación de la imagen.

Figura 23: muestra aleatoria de 9 imágenes del conjunto de validación clasificadas por la red VGG19. En los títulos de las imágenes se indica el grado predicho en la escala de Pult, la probabilidad de esta predicción y el grado real asignado por un observador humano.

Figura 24: matriz de confusión obtenida tras la clasificación del conjunto de validación con la red VGG19.

Figura 25: secuencia de meibografías tomadas para una misma persona a lo largo del día, del PS y PI.

Figura 26: diagrama de flujo de los participantes totales reclutados para el estudio

Figura 27: Gráfica de comparación de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio

Figura 28: Gráfica de comparación de la aparición de los síntomas subgrupos de estudio

Figura 29: gráficas del análisis de regresión lineal en ambos grupos de estudio (control a la izquierda y alteración de las GM a la derecha) y en el PS/PI.

Figura 30: gráficas del análisis de regresión lineal en ambos subgrupos: lentes de Contacto, a) PS, c) PI y patología/DGM, b) PS y d) PI.

Figura 31: gráficas de variación del contraste normalizado de las glándulas del PS a lo largo del día para a) grupo control y b) grupo patología.

Figura 32: gráficas de variación del contraste normalizado de las glándulas del PI a lo largo del tiempo para a) grupo control y b) grupo patología.

### **TABLAS:**

Tabla 1: tabla resumen de las escalas de gradación de las GM

Tabla 2: contraste promedio y su desviación estándar calculados para cada párpado, el tipo de contraste de imagen y el grupo de estudio. Los resultados obtenidos con el contraste de Michelson se localizan en la parte superior y los de Yeh y Lin en la parte inferior. Los *p*- valores indican las comparaciones entre el grupo control y el patológico. Todas las mediciones se realizaron de forma independiente para los párpados superior (PS) e inferior (PI).

Tabla 3: meiboscore promedio para el grupo control y el grupo con patología en PS, PI y la suma de ambos párpados

Tabla 4: (A) media y desviación estándar de los resultados de las gradaciones de las imágenes de meibografía realizadas por los tres observadores en las diferentes sesiones de gradación y *p*-valores para las comparaciones del mismo observador entre la sesión 1 y 2 (intraobservador). (B) *p*-valores para las diferencias entre observadores para cada sesión por separado (interobservador).

Tabla 5: Pruebas clínicas realizadas a los participantes en cada una de las visitas en las que consistió el estudio.

Tabla 6: resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio

Tabla 7: pruebas clínicas llevadas a cabo en el estudio

Tabla 8: pruebas realizadas en la segunda visita

Tabla 9: resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio

Tabla 10: Precisión en la clasificación de tres redes modificadas para la evaluación automática de las glándulas de Meibomio, obtenida en el conjunto de validación en cinco pruebas diferentes. En cada prueba, el conjunto total de imágenes se dividió aleatoriamente en un conjunto de entrenamiento (70% de las imágenes) y un conjunto de validación (30% de las imágenes). También indica la media y desviación estándar de cada red.

Tabla 11: pruebas clínicas realizadas a los participantes en el estudio

Tabla 12: pruebas clínicas realizadas al grupo control y con alteración de las GM. Comparación entre ambos grupos con *p*-valores.

Tabla 13: Distribución de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio y momento del día

Tabla 14: Distribución de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio y momento del día

Tabla 15: resultados del análisis de ANOVA de medidas repetidas para ambos grupos, separados por tipo de párpado, con las pruebas realizadas y sus *p*-valores. \* Con significación estadística, \*\* Sin significación estadística

Tabla 16: resultados para la comparación entre el grupo control y el grupo con alteración de las glándulas de Meibomio (GM) en el PS, basada en los resultados de las pruebas multivariantes y de efectos dentro de sujetos.

Tabla 17: resultados de la comparación entre el grupo control y el grupo con alteración de las glándulas de Meibomio (GM) en el PI, basada en los resultados de las pruebas multivariantes y de efectos dentro de sujetos.

## **GRÁFICAS**

Gráfica 1: meiboscore del PS, PI y del total para el grupo control y el de patología.

## **RESUMEN**

Las glándulas de Meibomio son glándulas sebáceas modificadas ubicadas en las placas tarsales de los párpados. Su función principal es producir y liberar lípido, denominado meibum, en la superficie de la película lagrimal. El meibum constituye un componente esencial de la película lagrimal y desempeña un papel crucial en la estabilidad de esta, ya que ayuda a reducir su evaporación, promueve su estabilidad y proporciona una barrera protectora frente a factores externos.

Para evaluar el estado y funcionalidad de las glándulas de Meibomio aún no se dispone de una prueba diagnóstica definitiva o “Gold Standard” y es necesario realizar pruebas de sintomatología y exámenes clínicos para identificar patologías asociadas a estas glándulas de manera concluyente. En la práctica clínica, una de las técnicas más empleadas para visualizar y valorar estas glándulas es la meibografía, una herramienta de imagen avanzada que permite observar en detalle la morfología de las glándulas de Meibomio. Desde sus inicios, hace más de 40 años, la meibografía ha evolucionado significativamente y, en la actualidad, la mayoría de los instrumentos utilizan luz infrarroja para obtener una visualización óptima de las estructuras glandulares.

Esta tesis doctoral se centra en la evaluación del contraste de las glándulas de Meibomio como posible marcador para la detección de patologías asociadas. Para ello, se llevaron a cabo varias fases de investigación con el objetivo de validar el contraste como un indicador fiable de alteraciones glandulares. Se compararon distintas técnicas de evaluación, incluyendo la meibografía con luz infrarroja y el uso de iluminación en el espectro visible. Además, se desarrolló y validó un dispositivo móvil experimental para la captura de imágenes meibográficas, con el fin de explorar su viabilidad en entornos clínicos.

Asimismo, se aplicaron modelos de inteligencia artificial basados en redes neuronales convolucionales para la segmentación y análisis automático de imágenes, con el objetivo de reducir la subjetividad en la evaluación del estado glandular. Finalmente, se analizaron las variaciones diurnas en el contraste de las glándulas de Meibomio con el objetivo de determinar su relación con la presencia de alteraciones glandulares y evaluar su potencial como herramienta diagnóstica.

Los resultados obtenidos indican que el contraste inter-glandular es un indicador fiable para la detección de alteraciones de las GM. Además, el uso de inteligencia artificial en el análisis automatizado de meibografías ha demostrado mejorar la precisión y reproducibilidad en la evaluación clínica. También se demostró que es posible obtener imágenes de alta calidad utilizando iluminación visible, lo que podría ampliar las opciones de diagnóstico en entornos con acceso limitado a tecnología infrarroja.

Por último, comprender cómo varía el contraste glandular a lo largo del día aporta una visión más profunda sobre la estructura o estado de las glándulas de Meibomio. Este conocimiento puede mejorar la comprensión de los mecanismos fisiológicos que regulan la función de las mismas y cómo estas afectan la estabilidad de la película lagrimal. Además, puede contribuir al desarrollo de herramientas diagnósticas más precisas para patologías relacionadas con las glándulas, como la disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM).

## **ABSTRACT**

The Meibomian glands are modified sebaceous glands located in the tarsal plates of the eyelids. Their primary function is to produce and release lipids, called meibum, onto the tear film surface. Meibum is an essential component of tear film and plays a crucial role in its stability by reducing evaporation, promoting stability, and providing a protective barrier against external factors.

To evaluate the state and functionality of the Meibomian glands, no definitive diagnostic test or "Gold Standard" is available. Symptom-based tests and clinical examinations are necessary to conclusively identify pathologies associated with these glands. In clinical practice, one of the most widely used techniques to visualize and assess these glands is meibography, an advanced imaging tool that provides detailed observation of the morphology of the Meibomian glands. Since its inception over 40 years ago, meibography has evolved significantly, and today, most instruments use infrared light to obtain optimal

This doctoral thesis focuses on evaluating the contrast of Meibomian glands as a potential marker for detecting associated pathologies. To this end, several research phases were conducted to validate contrast as a reliable indicator of glandular alterations. Various evaluation techniques were compared, including meibography with infrared light and the use of illumination within the visible spectrum. Additionally, an experimental mobile device was developed and validated for capturing meibographic images to assess its feasibility in clinical settings.

Furthermore, artificial intelligence models based on convolutional neural networks were applied for the automatic segmentation and analysis of images, aiming to reduce subjectivity in evaluating glandular health. Finally, diurnal variations in the contrast of Meibomian glands were analyzed to determine their relationship with glandular alterations and to assess their potential as a diagnostic tool.

The results obtained indicate that inter-glandular contrast is a reliable indicator for detecting glandular alterations. Moreover, the use of artificial intelligence in automated meibography analysis has been shown to improve accuracy and reproducibility in clinical evaluation. It was also demonstrated that high-quality images can be obtained using visible light illumination, which could expand diagnostic options in environments with limited access to infrared technology.

Finally, understanding how glandular contrast varies throughout the day provides deeper insight into the structure and condition of the Meibomian glands. This knowledge can enhance our understanding of the physiological mechanisms that regulate their function and how they affect tear film stability. Additionally, it may contribute to the development of more precise diagnostic tools for gland-related pathologies, such as Meibomian Gland Dysfunction (MGD).

## **ESTRUCTURA DE LA TESIS DOCTORAL**

Esta tesis doctoral se ha estructurado en capítulos sucesivos que avanzan lógicamente desde la revisión bibliográfica hasta los estudios finales, estableciendo una conexión coherente entre los antecedentes teóricos, hasta la metodología empleada y los resultados obtenidos.

En el capítulo 1, se realiza una revisión bibliográfica exhaustiva sobre el tema central de la investigación: las glándulas de Meibomio (GM). Este apartado describe en profundidad la anatomía y fisiología de las glándulas, examina las patologías asociadas, y detalla los métodos diagnósticos actuales, así como aquellos postulados como prometedores en el futuro próximo.

El capítulo 2 presenta la justificación de la investigación, las hipótesis planteadas y los objetivos específicos que guían este trabajo doctoral, estableciendo las bases conceptuales y los propósitos científicos que fundamentan la tesis.

El capítulo 3 nos sitúa en el contexto necesario para la realización de esta tesis doctoral mediante una serie de estudios preliminares en los que la doctoranda ha contribuido en su desarrollo. Aunque estos estudios son previos a este trabajo de investigación y, por tanto, se enmarcan fuera del ámbito del mismo, permiten establecer un orden y comprender mejor el contraste glandular como posible biomarcador para el diagnóstico de patologías en las glándulas de Meibomio. Se introduce el meibógrafo de luz visible y filtros (VisMeib) y se analizan diferentes métodos de medición y procesamiento de imágenes meibográficas. Además, se comparan técnicas de cálculo de contraste intra-glandular (CIN) e inter-glandular (CINTER) para determinar su utilidad como indicadores de patología. Finalmente, se evalúa la influencia del procesamiento de imágenes y la efectividad de distintos filtros en la optimización de la visualización de las GM, comparándolos con el estándar de referencia en meibografía, el dispositivo Keratograph 5M (K5M) de la empresa alemana Oculus GmbH.

En el capítulo 4 se presenta el diseño y desarrollo de un meibógrafo móvil, un dispositivo portátil que permite la captura de imágenes de las glándulas de Meibomio en cualquier entorno. Las imágenes adquiridas son procesadas mediante algoritmos en MATLAB, los cuales mejoran el contraste para facilitar su análisis. Además, se llevó a cabo un estudio de validación para determinar si las imágenes obtenidas con el meibógrafo móvil son comparables con el “Gold standar” en meibografía, el K5M.

En el capítulo 5, se aborda el análisis de las imágenes obtenidas a través del meibógrafo experimental (VisMeib) mediante técnicas de aprendizaje profundo (deep learning). En este trabajo se desarrolló un modelo de inteligencia artificial para la gradación automática del grado de pérdida glandular, permitiendo así una evaluación objetiva y reproducible del estado de las glándulas de Meibomio.

En el capítulo 6, se describe un estudio orientado a analizar las variaciones en el contraste de las GM a lo largo del día en diferentes grupos de estudio, control y alteración de las GM, con el fin de evaluar si existen diferencias entre grupos en el contraste glandular y de qué manera fluctúa este contraste a lo largo de las horas de día, explorando su posible relación con la fisiología glandular.

Para finalizar, el capítulo 7 presenta un análisis crítico e integrador de los resultados obtenidos a lo largo de la tesis, en el capítulo 8 se exponen las conclusiones de la tesis y, por último, en el capítulo 9 se describen las limitaciones y se proponen las posibles líneas de investigación futuras basadas en los resultados obtenidos.

## ***CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN***

Esta tesis doctoral se enfoca en el análisis y validación del contraste de las glándulas de Meibomio como posible biomarcador, con el fin de mejorar el diagnóstico de patologías asociadas a la disfunción de estas glándulas y aportar un conocimiento más profundo sobre su fisiología y función. La identificación de un marcador de patología basado en el contraste glandular puede abrir nuevas perspectivas para una evaluación precisa y temprana de patologías como la disfunción de las glándulas de Meibomio u otras enfermedades relacionadas. Con este propósito, antes de abordar los objetivos específicos de esta investigación, se realizará una exhaustiva revisión del estado del arte sobre las glándulas de Meibomio. Esta revisión permitirá contextualizar y fundamentar el trabajo, proporcionando un panorama actualizado de los conocimientos actuales en torno a su anatomía, fisiología y función, así como sobre las técnicas diagnósticas empleadas en su evaluación y los avances en el campo de la imagenología de las glándulas.

### **1.1 Glándulas de Meibomio:**

Las Glándulas de Meibomio (GM) son glándulas sebáceas modificadas que no están asociadas con folículos pilosos y se encuentran ubicadas en las placas tarsales de los párpados. Galenus las mencionó por primera vez en el año 200 d.C., más tarde, en 1666 fueron descritas por Heinrich Meibom, de cual reciben el nombre.<sup>1</sup> Estas glándulas secretan y sintetizan lípidos que se depositan sobre los márgenes de ambos párpados, por delante de la unión mucocutánea. Aparentemente las glándulas actúan de manera coordinada, influenciadas por una regulación hormonal y neural y por las fuerzas mecánicas de contracción muscular que se realiza durante el parpadeo.<sup>1</sup>

Las GM están inervadas principalmente por fibras nerviosas parasimpáticas provenientes del ganglio pterigopalatino, así como por axones simpáticos del ganglio cervical superior y fibras sensoriales del ganglio trigémino.<sup>2,3</sup>

La extensión de las GM corresponde aproximadamente a las dimensiones de las placas tarsales de los párpados donde están orientadas verticalmente con una disposición en paralelo. En el párpado superior, se ha reportado la presencia de aproximadamente 31 glándulas, mientras que en el párpado inferior se encuentran alrededor de 26. En términos de longitud, las glándulas del párpado superior miden cerca de 5,5 mm, en contraste con las del párpado inferior que miden alrededor de 2 mm, lo cual se debe a las diferencias

anatómicas entre ambos párpados. Además, el número de acinos es mayor en el párpado superior, lo que sugiere una mayor capacidad secretora.<sup>1</sup>

Producen lípidos polares y no polares a través de las células acinares y una vez producidos, se secretan mediante un proceso holocrino sobre la superficie ocular a través de los orificios de las GM en el margen del párpado. Este conjunto de lípidos se conoce como meibum<sup>4</sup> y es uno de los componentes de la película lagrimal.

La película lagrimal constituye la parte más externa de la superficie ocular siendo la encargada de proteger y humectar la córnea. Adopta un modelo bicapa que establece una capa interna formada por un componente acuoso y mucínico, y una capa externa de lípidos. Su espesor es de 2-6  $\mu\text{m}$  y aproximadamente solo unos 42 nm corresponden a la capa lipídica.<sup>5,6</sup>

La capa lipídica deriva casi en su totalidad del meibum secretado por las glándulas de meibomio y se extiende sobre la superficie ocular con cada parpadeo. La secreción de estas glándulas consiste en una mezcla compleja que incluye colesterol, ésteres de colesterol, ceras, así como fosfolípidos con pequeñas cantidades de triglicéridos y triacilglicérolos e hidrocarburos.<sup>7</sup>

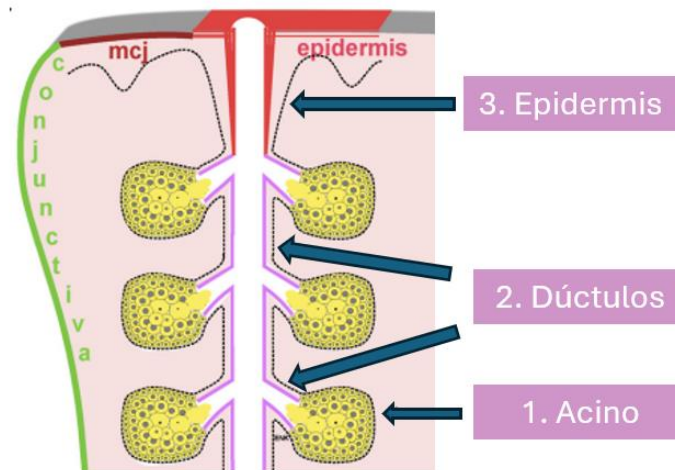
Los lípidos glandulares previenen la evaporación de la película lagrimal y promueven su estabilidad al reducir la tensión superficial. El meibum proporciona una superficie óptica lisa y uniforme lo que mejora la calidad de visión; funciona como lubricante para facilitar el movimiento de los párpados sobre la superficie ocular reduciendo la fricción entre los párpados y ojo; evita que la lágrima rebase los límites palpebrales; crea un sello hermético durante el sueño sellando el ojo para evitar la deshidratación y sirve de barrera para evitar que las bacterias entren a la película lagrimal. Todo ello convierte a estos lípidos en elementos esenciales para el mantenimiento de la integridad de la superficie ocular.<sup>8,9,10</sup> A continuación, se realizará una descripción de la anatomía de las GM para comprender mejor su estructura y funcionamiento.

## **1.2 Anatomía de las glándulas de Meibomio**

Las glándulas de Meibomio están compuestas por meibocitos, que son células epiteliales organizadas en unidades secretoras denominadas acinos,<sup>3</sup> la forma de los acinos puede ser alargada o esférica y tienen un modo de secreción holocrina, como se ha comentado con anterioridad. Los meibocitos que están ubicados hacia el centro del acino presentan acumulación de lípidos en su citoplasma y durante la maduración celular experimentan

contracción y desintegración de su núcleo, por lo que el contenido de la célula forma el producto oleoso secretor llamado meibum. Cada glándula tiene un único conducto central, rodeado de 10-15 acinos, la conexión entre los acinos y el conducto central se produce mediante conductos laterales más cortos llamados dúctulos laterales, el meibum pasa del acino al conducto central a través de ellos, tal y como se muestra en la Figura 1. El conducto central se extiende a lo largo de la glándula y corresponde aproximadamente a la extensión del tarso. En la parte terminal de este conducto central y entre los acinos que están cerca del margen palpebral, se encuentran varias fibras estriadas de los músculos de Riolo que parecen rodear la parte terminal de las GM. Esta parte terminal del conducto central a menudo está ligeramente dilatada, debido a su contenido fisiológico de meibum.<sup>1,3</sup>

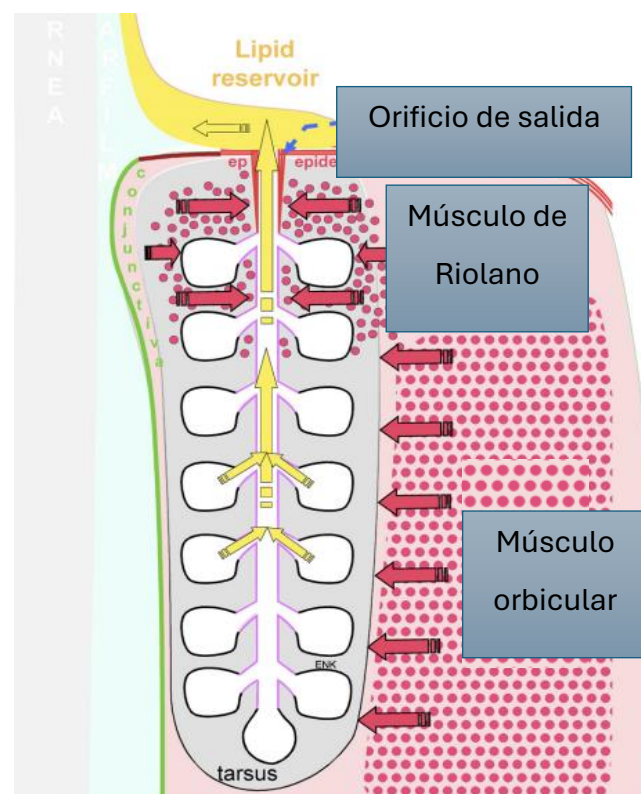
El epitelio cornificado del margen libre del párpado (epidermis), se extiende hacia la parte terminal de las GM. El epitelio se transforma de forma progresiva en epitelio ductal común. Como esta parte terminal tiene una estructura epitelial diferente en comparación al resto del conducto central, se le denomina conducto excretor.<sup>11</sup>



**Figura 1: esquema de la morfología de las glándulas de meibomio, imagen modificada de Knop y Knop, 2009<sup>1</sup>**

### 1.3 Forma de secreción de las glándulas de Meibomio

Los meibocitos durante el proceso de maduración, aumentan en tamaño y en número lo que contribuye a la producción y acumulación de lípidos, estos se mueven del compartimento basal del acino hacia el centro y finalmente vacían su contenido de manera holocrina en los conductos. La producción continua de nuevos meibocitos en los acinos y su desintegración en el producto secretor, genera una fuerza secretora que impulsa el meibum desde dentro de los conductos hacia el orificio del margen libre palpebral. En el mecanismo de secreción del meibum, los músculos palpebrales cobran una gran importancia, el músculo orbicular situado en la parte externa del tarso palpebral, se contrae y genera compresión en las GM, y el musculo de Riolano, localizado también en el tarso, pero más próximo al borde libre, actúa cerrando el orificio cuando se contrae para evitar la continua liberación del meibum.<sup>1,12</sup> La Figura 2 muestra un esquema de dicho mecanismo fisiológico.



**Figura 2: esquema de una glándula de Meibomio donde se muestran las diferentes estructuras anatómicas implicadas en la secreción del meibum. <sup>1</sup> las flechas indican las fuerzas ejercidas por la musculatura orbicular para la secreción del meibum y por el musculo de Riolano para el cierre selectivo del conducto glandular.**

## **1.4 Alteraciones relacionadas con las GM**

Cuando hablamos de las alteraciones de las GM, nos referimos a todos los trastornos de las glándulas que conducen a cambios en la composición y/o secreción del meibum. Todas las alteraciones que afectan a las GM pueden provocar inestabilidad y anomalías en la película lagrimal y están consideradas como un factor intrínseco del ojo seco evaporativo. La evaporación de la película lagrimal conduce a un aumento de la hiperosmolaridad. Esta hiperosmolaridad puede inducir la apoptosis en las células epiteliales de la conjuntiva y la córnea, además de inflamación en la superficie ocular.<sup>13,14</sup> A pesar de que la prevalencia de ojo seco en la población es bastante alta, los mecanismos moleculares que subyacen a la DGM aún son poco conocidos, y entenderlos sería de gran ayuda para desarrollar mejores tratamientos para quienes padecen esta enfermedad.<sup>3</sup>

### **1.4.1 Blefaritis**

El término blefaritis describe la inflamación del párpado en su conjunto, esta inflamación afecta a la piel, pestañas y a las glándulas de Meibomio, es uno de los trastornos oculares más frecuentes.

Históricamente, y como estudiaremos con detalle más adelante, la blefaritis se ha dividido en blefaritis anterior, que afecta a las pestañas y al margen anterior del párpado, y blefaritis posterior, la cual afecta al borde posterior del párpado, pudiendo tener diferentes causas como infección por microorganismos, disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM), inflamación conjuntival u otras condiciones como la rosácea o el acné.<sup>15,16</sup>

Los síntomas generales que pueden acompañar a la blefaritis son: ardor, sensación de cuerpo extraño, picazón, irritación, ojos doloridos, fotofobia e intolerancia a lentes de contacto. Los signos son: márgenes de los párpados inflamados, ojos rojos, formación de costras o collarettes, irregularidad palpebral, úlceras, apariencia alterada de las pestañas, orzuelos y chalazión.<sup>16</sup>

En estadios más graves puede dar lugar a variaciones estructurales como entropión, ectropión o triquiasis. La afección suele ser bilateral, crónica e intermitente.

Se dice que la blefaritis posterior está relacionada con la DGM cuando los síntomas y signos en el margen del párpado se vuelven más visibles, así como alteraciones en la expresión y calidad del meibum.<sup>8</sup>

### **Clasificación blefaritis:**

No existe un consenso global en la clasificación, pero se puede clasificar según la fisiopatología de la enfermedad:

***Blefaritis anterior:*** esta afecta a los folículos pilosos y a las glándulas de Zeis y Moll. Según su fisiopatología se divide en:

- Blefaritis estafilocócica: Infección crónica, producida por bacterias del género *Staphylococcus*, que aparece en la base de las pestañas, muestra ulceración epidérmica/dérmica y escamas duras.<sup>16</sup>

- Blefaritis seborreica: En este tipo de blefaritis, las glándulas sebáceas de los folículos pilosos de las pestañas presentan alteraciones. Los pacientes presentan: telangiectasias, bordes palpebrales inflamados o enrojecidos, pestañas grasientas y adheridas. Está se asocia directamente con la dermatitis seborreica.<sup>16</sup>

***Blefaritis posterior:*** Este tipo de blefaritis presenta una inflamación que produce una irritación ocular. Se asocia con cambios funcionales y estructurales de las glándulas de Meibomio y puede llevar al desarrollo de la Disfunción de la Glándulas de Meibomio (DGM).<sup>17,18,19</sup>

Se supone que la DGM y la blefaritis posterior están relacionadas cuando los signos en el margen del párpado y los síntomas se vuelven más visibles, así como alteraciones en la expresión y calidad del meibum.<sup>8</sup>

#### **1.4.2 Disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM)**

La Disfunción de las Glándulas de Meibomio (DGM) se define como “anomalía crónica y difusa de las glándulas de Meibomio, comúnmente caracterizada por la obstrucción del conducto terminal y/o cambios cualitativos/cuantitativos en la secreción glandular”.<sup>8</sup>

En esta afección se produce una anomalía en la secreción de los lípidos, afectando a la estabilidad de la película lagrimal, dando lugar a alteraciones de la película lagrimal, irritación ocular, enfermedad de la superficie ocular e inflamación clínicamente apreciable. Cuando la DGM se vuelve crónica, la obstrucción y el mal funcionamiento continuos pueden llevar a cambios estructurales en las glándulas, lo que incluye la atrofia de estas, es decir una reducción progresiva en su tamaño y función.<sup>13</sup>

El término DGM ha sido utilizado en la literatura como si fuera el sinónimo de blefaritis posterior, sin embargo, la blefaritis posterior describe condiciones inflamatorias del borde

posterior del párpado, de las cuales la DGM es solo una causa posible. En las primeras etapas de la DGM, los individuos pueden ser sintomáticos o asintomáticos. A medida que avanza la DGM, se desarrollan los síntomas y los signos del margen palpebral, como cambios en la calidad o expresividad del meibum y enrojecimiento del margen palpebral.<sup>8,20</sup>

Algunos síntomas que caracterizan a la DGM son el hinchazón y enrojecimiento de los párpados en ausencia de escamas o costras, las características más globales son el daño en la superficie ocular, la hiperosmolaridad y la inestabilidad lagrimal.

Las glándulas afectadas en la DGM pueden presentarse de forma difusa o en una región localizada de los párpados.<sup>20</sup>

- **Clasificación de la DGM:**

La clasificación de las DGM se propone en base a dos categorías principales basadas en la secreción de las GM: estados de baja entrega en la secreción del meibum y estados de alta entrega en la secreción del meibum. Los estados de baja entrega se clasifican a su vez como hiposecretores y obstructivos, con subcategorías cicatriciales y no cicatriciales.<sup>8</sup>

La *DGM hiposecretora* representa la disminución del suministro del meibum debido a alguna anomalía en estas glándulas, pero sin llegar a obstruirlas. En varias ocasiones se asocia con la atrofia que sufren las GM y está relacionada con el uso de lentes de contacto.

La *DGM obstructiva* se debe a la obstrucción del conducto terminal. Se produce una hipertrofia en el epitelio ductal y una queratinización en el orificio de salida del meibum. Se divide en dos subcategorías:

- Cicatricial: donde los orificios son arrastrados posteriormente hacia la mucosa. (ej. tracoma)
- No cicatricial: los orificios permanecen en su posición anatómica. (ej. Acné, rosácea)

La *DGM hipersecretora* se caracteriza por la liberación de un gran volumen de lípidos en el margen del párpado, esto es notable cuando se aplica presión sobre el párpado. No se presenta inflamación ni cambios en la estructura de las GM.<sup>8</sup>

Se supone que la DGM es la causa más común del síndrome del ojo seco evaporativo.<sup>21</sup> Se estima que la prevalencia de la DGM oscila entre el 0,39 % y el 69,3 %. Es probable que una variación tan amplia en la prevalencia se deba a la falta de una definición común,

diferentes métodos de diagnóstico y a la variación de esta con la edad y el origen étnico.<sup>22</sup>  
 A continuación, se expone el esquema de la clasificación mencionada anteriormente.

<b>Disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM)</b>	<b>BAJA ENTREGA</b>	<b>DGM Hiposecretora</b>	Primaria o Secundaria	<i>Asociada con atrofia glandular. Relacionada con el uso de lentes de contacto.</i>
		<b>DGM Obstruktiva</b>	Cicatricial	<i>Las causas son: Tracoma, enfermedad ocular atópica</i>
			No cicatricial	<i>Relacionada con el Síndrome de Sjögren, acné o rosácea</i>
	<b>ALTA ENTREGA</b>	<b>DGM Hipersecretora</b>	Primaria o Secundaria	<i>No presenta inflamación ni cambios en las GM. Relacionada con dermatitis seborreica, acné o enfermedad atópica.</i>

**Figura 3: clasificación de la disfunción de las GM <sup>8</sup>**

- **Tratamientos para la DGM**

En relación con los tratamientos para la DGM es importante destacar que dependen de la gravedad de la afección. A continuación, se mencionan algunos de los más comunes:

- Aplicación de calor húmedo sobre los párpados y posterior masaje, para evitar las obstrucciones y facilitar la liberación del meibum.<sup>23</sup>
- Higiene palpebral para eliminar la acumulación de secreciones o bacterias que puedan llegar a obstruir las glándulas. Se pueden utilizar productos específicos como las toallitas limpiadoras.<sup>23</sup>
- Tratamientos terapéuticos de pulsación térmica -IPL-, cuya misión es liberar obstrucciones y mejorar el flujo de secreción.<sup>24</sup>
- Terapias farmacológicas que ayuden a reducir la inflamación.
- Lagrimas artificiales que ayuden a mejorar los síntomas de sequedad ocular.

- **Métodos diagnósticos para la DGM**

El diagnóstico de la DGM requiere el uso de técnicas apropiadas para determinar el daño de la superficie ocular y el grado de disfunción de las GM.

Cuando en la clínica se aprecia ojo seco evaporativo, el estudio de las GM es clave para saber si éste es causado por una DGM. A pesar de la importancia clínica de esta patología no existen un criterio universal establecido para su diagnóstico.<sup>25</sup>

Son numerosas las pruebas que existen para evaluar directa o indirectamente la estructura y función de las GM. A continuación, se describirán las más comúnmente empleadas para evaluar estas glándulas.

**1. Cuestionarios de sintomatología:**

- *Ocular Surface Disease Index (OSDI)*: Cuestionario que consta de 12 preguntas diseñado para evaluar de forma rápida los síntomas relacionados con el ojo seco y el impacto que tienen sobre la visión. Se puntúa en una escala de 0-100, cuanto mayor es la puntuación, más elevados son los síntomas de ojo seco y mayor es el grado de ojo seco. El valor normal es < 12 puntos, de 12-21 puntos se considera leve, moderado entre 22-33 puntos y severo > 33 puntos.<sup>26</sup>
- *Visual Analogue Scale (VAS)*: cuestionario subjetivo que se utiliza para medir la intensidad de los síntomas. Se trata de una línea horizontal donde en los extremos están el 0 y el 10 (0 es la intensidad menor y 10 la mayor), el paciente tiene que dibujar una línea vertical sobre la horizontal indicando el grado de intensidad del síntoma.<sup>27</sup>
- *Meibomian Gland Dysfunction -14 (MGD-14)*: cuestionario donde se evalúa la frecuencia y la intensidad de los siguientes síntomas: ardor, sequedad, sensación de arenilla, visión borrosa, dolor y picazón. Consta de 14 ítems, y su escala va de 0-126 puntos. Los valores de 0 a 20 indican valores normales; de 21 a 50 malestar leve; de 51 a 90 malestar moderado; de 91 a 126 malestar severo.<sup>28</sup>
- *Dry Eye Questionnaire-5 (DEQ-5)* y *Contact Lens Dry Eye Questionnaire-8 (CLDEQ-8)*: Cuestionarios de sintomatología de ojo seco que miden la frecuencia, el grado de intensidad y la molestia ocular (al principio y final del día). El DEQ-5 se emplea para sujetos no usuarios de lentes de contacto y su escala de gradación de es 0-22 puntos. Donde la puntuación de 0-5 se consideran valores normales; de 6 a 12 síntomas leves y de 13 a 22 síntomas moderados a severos.

El CLDEQ-8 es para usuarios de lentes de contacto y su escala de gradación va de 0-37 puntos. Donde la puntuación de 0 a 12 se consideran valores normales; 13-24 síntomas leves a moderados y de 25-37 síntomas moderados a severos.<sup>29,30</sup>

2. **Altura del menisco lagrimal:** esta medida se puede hacer de forma objetiva o subjetiva, este método es uno de los más populares y consiste en medir la altura del menisco lagrimal inferior ya sea con instrumentos que nos proporcionen la medida con precisión micrométrica, como el Oculus Keratograph 5M<sup>TM</sup> o con una regla micrométrica a través del ocular del biomicroscopio.<sup>7</sup>
3. **El test de Schirmer:** Es un método invasivo para medir la producción de lágrimas, se puede llevar a cabo con o sin anestesia tópica. Si los valores obtenidos son inferiores a 5 mm en 5 minutos, sin la aplicación de anestesia, indica un ojo seco severo. Además, esta prueba es útil para distinguir entre DGM con baja entrega de meibum, muestra resultados bajos en este test, y la DGM hipersecretora, donde los resultados son normales. Hay muchas causas de lagrimeo reflejo aparte de la DGM, por lo tanto, esta prueba debe interpretarse con precaución y por sí sola no puede diagnosticar la DGM.<sup>7,22</sup>
4. **Medida de la osmolaridad lagrimal:** Se ha comprobado que la osmolaridad de la lagrime se incrementa en personas con DGM, debido a la evaporación de la lagrime. Existen dispositivos para medir la osmolaridad de la lagrime, como el sistema TearLab<sup>TM</sup> (TearLab Corporation, San Diego, California, EE. UU).<sup>7</sup>
5. **Examen de la superficie ocular con lámpara de hendidura:**
  - **Tinciones corneales:** La evaluación de la superficie corneal se lleva a cabo mediante la aplicación de fluoresceína sódica, observándose con filtro amarillo (Wratten) y azul. Las áreas que muestran un teñido con fluoresceína indican la presencia de daño en la córnea. Para evaluar y clasificar el nivel de afectación corneal, se utilizan diferentes escalas de gradación.<sup>22</sup>
  - **Tinciones conjuntivales:** La evaluación de las tinciones en la conjuntiva se realiza mediante la aplicación de fluoresceína o, alternativamente, verde de lisamina, siendo este último más eficaz para teñir el epitelio conjuntival dañado. De forma similar a las tinciones corneales, se emplean escalas de gradación para valorar la afectación epitelial. Las tinciones en la conjuntiva, especialmente en el borde palpebral, se relacionan con la DGM o blefaritis.<sup>31,32</sup>

- *Tear break up time (TBUT) o tiempo de ruptura de la película lagrimal:* La prueba TBUT representa el tiempo, en segundos, desde el último parpadeo completo hasta la aparición de la primera línea o mancha seca en la córnea. Se lleva a cabo mediante la instilación de fluoresceína sódica y se observa con filtro azul y amarillo. Es recomendable realizar la medición 3 veces para obtener resultados más precisos. Un TBUT inferior a 10 segundos indica una película que se evapora con rapidez, posiblemente causada por una lagrimea inestable, deficiente en lípidos.<sup>7,22</sup>

#### **6. Examen clínico de las GM y anexos:**

- *Evaluación de la morfología de las GM:* La evaluación se lleva a cabo mediante el uso de una lámpara de hendidura, examinando tanto la superficie ocular como los márgenes palpebrales. Se observa la regularidad de los párpados, si los orificios de salida de las GM son visibles, la rugosidad y vascularización palpebral y el enrojecimiento del tarso conjuntival. Las alteraciones en las estructuras anexas, como la irregularidad palpebral o las telangiectasias, son indicadores clave con el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades relacionadas con las GM.<sup>7</sup>
- *Expresión y calidad del meibum:* Para evaluar la expresión y la calidad del meibum se ejerce presión sobre la parte externa del párpado, cerca del borde libre. Esta presión se realiza con un bastoncillo en diferentes áreas del párpado: central, nasal y temporal. Durante el proceso, se observa si los orificios de las GM liberan meibum, la calidad de este y la presión necesaria para que secrete dicha sustancia.<sup>7,21,33</sup>

**7. Meibografía:** Los métodos mencionados anteriormente son capaces de medir parámetros de la función glandular, pero no pueden evaluar directamente la estructura de la glándula como la meibografía. La pérdida o atrofia total o parcial de la GM puede cuantificarse mediante meibografía. La meibografía es una técnica de imagen que proporciona fotografías de la morfología de las glándulas de Meibomio cuando son iluminadas con técnicas de iluminación especializadas, generalmente con luz infrarroja cercana, ya que no son accesibles a la visualización directa con luz blanca. Esto se debe a que la imagen de las glándulas queda oculta por la red de vasos sanguíneos que confiere el color rojo característico a la superficie tarsal interna. La meibografía se ha convertido en una herramienta importante tanto para médicos que evalúan la disfunción como para investigadores que quieren comprender y estudiar la

naturaleza de la DGM. La técnica se ha ido desarrollando a lo largo de más de 40 años, gracias a avances de la tecnología médica, con el fin de visualizar in vivo la morfología de las GM, permitiendo cuantificar también su estructura.<sup>22,34</sup>

### **1.5 Influencia de las lentes de contacto en las GM**

Son varios los estudios que han analizado la interacción entre las GM y las lentes de contacto (LC), ya que se considera que el uso de LC es un factor de riesgo para la DGM, pudiendo alterar tanto la morfología de las GM como la capa lipídica de la película lagrimal. Por un lado, investigaciones como las de Korb *et al*<sup>35</sup> y Ong *et al.*<sup>36</sup> han encontrado una asociación entre el uso de LC y una menor capacidad de expresión de las GM. En el 2008 Arita *et al.*<sup>37</sup> demostraron que el uso de LC producía cambios en la morfología y funcionalidad de las GM, atribuyendo estos cambios al efecto mecánico que ejercen las LC. Asimismo, un estudio de Waleed M. Alghamdi *et al.*<sup>38</sup> en 2016 indicó que los cambios morfológicos en las GM ocurren durante los dos primeros años de uso de la LC, y la interrupción de su uso durante 6 meses no produce ningún cambio significativo en la morfología.

Sin embargo, también existen estudios que sugieren que el uso de LC no incrementa el riesgo de DGM. Por ejemplo, Hom *et al.*<sup>39</sup> no encontraron correlación entre el uso de LC y la capacidad de expresión de las GM, mientras que Nichols *et al.*<sup>40</sup> no hallaron evidencia que vincule el uso de las LC con la pérdida glandular al evaluar esta condición mediante meibografía infrarroja.

A lo largo del tiempo ha habido diferentes hallazgos clínicos acerca de la interacción de las LC con las GM, esto puede ser debido a la falta de consenso que había con respecto a la definición de la DGM y su diagnóstico, pero hoy en día prevalece la idea, y estudios recientes así lo demuestran, de que las GM pueden verse afectadas por el uso de LC.<sup>37,38</sup>

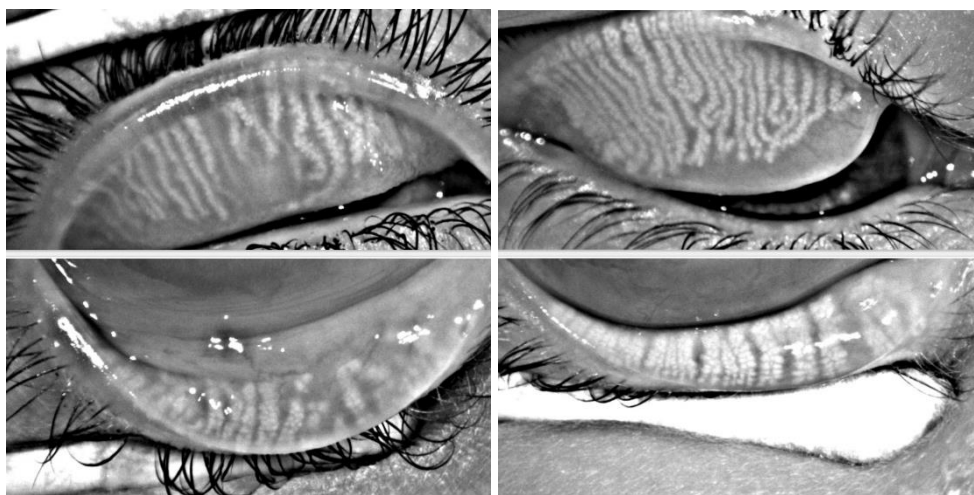
### **1.6 Meibografía**

La meibografía es una técnica de obtención de imágenes de las GM. Esta técnica permite analizar tanto macroscópica como microscópicamente la estructura de las GM, gracias a las diferencias de reflectancia que hay entre los distintos componentes de la conjuntiva tarsal. Los acinos y conductos glandulares, debido a su mayor reflectancia, se ven más iluminados en comparación con los espacios inter-glandulares, que reflejan menos luz.

A lo largo de sus 45 años de evolución, las técnicas de meibografía han avanzado con el objetivo de mejorar la visualización de las GM de la manera menos invasiva posible. En

un principio la meibografía utilizaba la luz UV para la observación de las GM, esta luz proporcionaba mayor fluorescencia de las estructuras del tarso. Posteriormente empezó a utilizarse la luz infrarroja (IR) la cual proporciona una mayor definición de las glándulas, ya que tiene la capacidad de penetrar de forma más eficaz en tejidos vivos. <sup>41,42</sup>

Hoy en día, la meibografía con luz IR sigue siendo la más utilizada para el estudio de las imágenes de las GM debido a su fiabilidad en la producción de imágenes de las GM en alta calidad. Normalmente se utilizan LEDs (Light Emitting Diode) infrarrojos con longitudes de emisión en el rango entre los 800-900 nm. La meibografía es la técnica más completa para estudiar estas glándulas, permite un análisis detallado de las estructuras glandulares y posibilita medidas cuantitativas a partir de las imágenes obtenidas. Esta técnica es especialmente útil en el diagnóstico de enfermedades como la blefaritis o la disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM). <sup>22</sup> existen dos tipos diferentes de meibografía: de contacto y sin contacto.



**Figura 4:** imágenes de meibografía obtenidas con el Oculus keratograph 5M <sup>TM</sup>, del párpado superior e inferior de un paciente con patología (izquierda) y un paciente control (derecha).

### **1.6.1 Meibografía de contacto.**

Esta técnica fue introducida por primera vez en 1977, fue la primera técnica para visualizar las GM, se colocaba una sonda con un filtro de luz roja directamente en el párpado para observar las glándulas mediante transiluminación. Este tipo de meibografía ha sido muy útil durante años, pero presenta una serie de limitaciones debido al calor y presión generados por la sonda, que causaba molestias al paciente e irritación ocular,

además era necesario la intervención de un experto y la captura de múltiples imágenes para obtener una visión completa del párpado, lo que llevó a su desuso.<sup>22,31,43</sup>

### 1.6.2 Meibografía sin contacto

En el 2008 Arita *et al*<sup>25</sup>, modifican la técnica convencional y desarrollan un meibógrafo compuesto por una lámpara de hendidura con un filtro de transmisión IR (IR 83, Hoya, Tokio, Japón) y una cámara de video IR acoplada a la lámpara, para visualizar la estructura de las GM con el párpado evertido e iluminado directamente por luz IR, pero sin contacto con una sonda, así no causa molestia al paciente.<sup>44</sup>

La luz IR atraviesa los lípidos, provocando una dispersión que ilumina claramente las glándulas en las imágenes meibográficas. A partir de esta fecha se han ido desarrollando equipos para la realización de meibografías con luz IR, los instrumentos han ido mejorando la técnica con el paso del tiempo y hoy en día permiten realizar un análisis computacional de las imágenes obtenidas, lo que la convierte en una técnica objetiva y reproducible.<sup>45</sup>

Uno de los modelos más recientes para realizar meibografías que se ha mencionado anteriormente es el OCULUS Keratograph 5M™ (K5M), un topógrafo corneal avanzado y sin contacto, tiene queratómetro integrado y cámara IR incorporada. Este dispositivo incorpora un procesamiento de imagen para mejorar el contraste de las GM y aumenta el campo de visión para que se puedan obtener la imagen de todo el párpado.<sup>31,44</sup>

Otros dispositivos en el mercado incluyen el Lipiview® II (Johnson and Johnson Vision, Irvine, CA)<sup>46</sup> y el Sirius (CSO, Florencia, Italia)<sup>47</sup>, que también permiten capturar imágenes de las GM.

### 1.6.3 Otras técnicas para la observación de las GM

- **Meibografía con láser confocal con barrido laser:** Esta técnica desarrollada en 2005 permite observar estructuras microscópicas de las GM, como el diámetro, la densidad de las unidades glandulares o el tejido que las rodea, usando un microscopio confocal que utiliza como fuente de luz un láser de diodo de 670 nm. Es una técnica invasiva ya que el objetivo de inmersión del microscopio se coloca directamente sobre la conjuntiva, requiriendo un anestésico tópico.<sup>48,49,50</sup>
- **Meibografía de coherencia óptica:** Técnica no invasiva que permite medir en tres dimensiones las GM mediante un tomógrafo de coherencia óptica (OCT) que

usa luz centrada en 1060 nm para valorar las GM in vivo. Es un método especialmente útil para analizar patologías donde el grosor conjuntival es mayor.<sup>51,52</sup>

### **1.7 Análisis de la meibografía**

Una vez obtenidas las imágenes meibográficas, estas pueden ser analizadas para extraer información y llegar a un diagnóstico. El método más común para la evaluación subjetiva es la gradación, técnica en la que los profesionales sanitarios determinan el nivel o grado de pérdida glandular, basándose en la extensión de las GM en el tarso conjuntival. Actualmente, los métodos subjetivos de gradación de las GM continúan siendo los más empleados en la práctica clínica diaria. Existen diferentes escalas de gradación, algunos han analizado el porcentaje de abandono, otros el número de glándulas en el párpado o el porcentaje de glándulas parciales, sin embargo, existen pocas escalas de clasificación detallada.<sup>53</sup>

Pflugfelder<sup>54</sup> clasificó la ausencia de las glándulas o “drop out” con una escala de cuatro grados. Otra escala es la de Gestalt, donde clasifica las GM en si son completas, que son aquellas que atraviesan linealmente el párpado, o si son parciales, que no atraviesan de forma completa el párpado.<sup>53,55</sup>

En el 2008 Arita *et al.*<sup>25</sup> desarrollaron una escala de 4 grados, llamado meiboscore, que describe el área de pérdida glandular, los pasos van del (0-3) de acuerdo con el porcentaje glandular alterado o perdido. Una vez obtenidos los resultados del párpado superior e inferior se suman. Pult y Riede-Pult<sup>55</sup> crearon una escala de 5 grados, para aumentar la sensibilidad a cambios más pequeños, tal y como aparece reflejado en la Figura 5 adaptada de la referencia.<sup>55</sup>

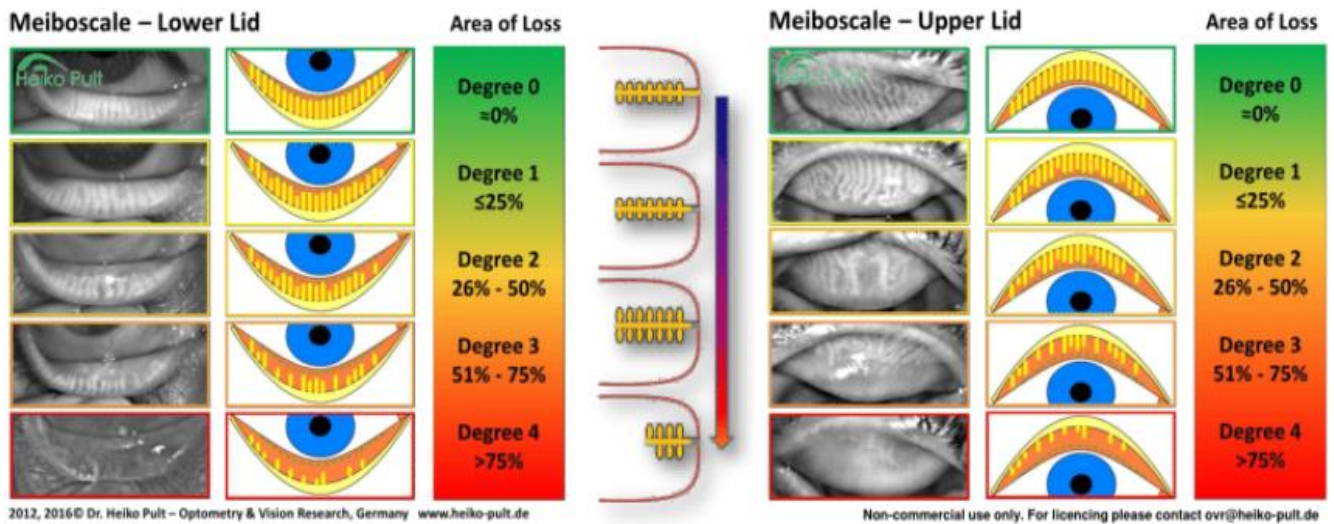


Figura 5: meiboescala de Pult y Riede-Pult. Figura tomada de la referencia <sup>55</sup>

A continuación, se muestra una tabla (tabla 1) detallada con las escalas más empleadas, mencionadas anteriormente, para valorar la pérdida glandular. <sup>53</sup>

	<b>Grado 0</b>	<b>Grado 1</b>	<b>Grado 2</b>	<b>Grado 3</b>	<b>Grado 4</b>
<i>Pflugfelder et al</i> <sup>54</sup>	No se aprecia pérdida glandular	33% de pérdida glandular	Entre el 34-66% de pérdida glandular	Mas del 66 % de pérdida glandular	
<i>Nichols et al</i> <sup>56</sup>		Sin glándulas parciales	Menos del 25% de glándulas parciales	Entre el 25-75% de glándulas parciales	Mas del 75% de glándulas parciales
<i>Arita et al</i> <sup>25</sup>	No se aprecia perdida glandular	Perdida menor a 1/3 del área del párpado	Pérdida glandular entre 1/3 y 2/3 del área palpebral	Pérdida glandular superior a 2/3 del área palpebral	
<i>Pult et al</i> <sup>55</sup>	Sin pérdida glandular	Menos del 25% de pérdida glandular	Entre el 26-50% de pérdida glandular	Entre el 51-75% de pérdida glandular	Mas del 75% de pérdida glandular

Tabla 1: tabla resumen de las escalas de gradación de las GM <sup>53</sup>

### **1.7.1 Métodos objetivos de evaluación de las GM**

Se han desarrollado técnicas de imagen avanzadas que permiten extraer datos sobre la morfología, estructura y función de las GM, lo que ofrece una evaluación más precisa que los métodos subjetivos. A través de software especializados como son ImageJ<sup>57</sup> y Matlab<sup>58</sup>, se pueden analizar algunas características de las GM, como la anchura, torsión y área glandular, además de ser capaz de cuantificar el grado de pérdida glandular. Estos análisis automáticos han demostrado mayor especificidad y reproducibilidad, tanto entre observadores como dentro de un mismo observador, que los métodos subjetivos<sup>55</sup>, lo que facilita el diagnóstico preciso. En este ámbito, las técnicas de inteligencia artificial (IA) están emergiendo como herramientas prometedoras para el análisis de imágenes meibográficas.

### **1.7.2 Clasificación de imágenes meibográficas mediante IA**

Los recientes avances en tecnología de imágenes médicas han permitido el desarrollo de métodos menos invasivos y más rápidos para evaluar las GM. Estos sistemas son capaces de segmentar automáticamente el párpado e identificar atrofia o pérdida glandular. Esto proporciona una evaluación objetiva y repetible, lo que facilita el diagnóstico de enfermedades de las GM y su posterior tratamiento.

La introducción de la IA en el análisis de las imágenes meibográficas comenzó en el 2012, cuando Koh *et al*<sup>59</sup> desarrollaron un algoritmo de aprendizaje automático o Machine Learning (ML) capaz de detectar la longitud y anchura glandular, logrando una sensibilidad y especificidad del 95%. Desde entonces otros estudios<sup>60,61,62</sup> han implementado algoritmos de aprendizaje profundo o Deep Learning (DL), para caracterizar las GM, analizando su longitud, tortuosidad, anchura o área glandular entre otras. Por ejemplo, Wang *et al*<sup>63</sup> propusieron un enfoque de DL para analizar la atrofia glandular, obteniendo una precisión mayor al 95% o Yeh *et al*<sup>64</sup> desarrollaron un método para evaluar la atrofia de las glándulas de Meibomio mediante una red neuronal convolucional (CNN) no supervisada y un modelo K-NN para asignar un meiboscore. Su sistema logró una precisión del 80,9%, superando las evaluaciones de los especialistas

El Deep Learning “aprendizaje profundo”, es un subconjunto del ML que utiliza redes neuronales multicapa, llamadas redes neuronales profundas, en particular redes neuronales convolucionales (CNNs), para simular el complejo poder de toma de decisiones que emplea el cerebro humano. El DL ha demostrado ser altamente eficaz en

la segmentación y análisis de imágenes médicas debido a su alta capacidad para extraer características relevantes sin un preprocesamiento manual. A diferencia de los métodos tradicionales de clasificación, que dependen de descriptores de textura predefinidos, las CNNs pueden aprender automáticamente patrones complejos en imágenes de alta dimensionalidad, mejorando la precisión y reduciendo la dependencia de la intervención humana. Sin embargo, el rendimiento de estos modelos depende en gran medida de la cantidad y calidad de los datos de entrenamiento, así como de su capacidad para generalizar a diferentes condiciones de imagen.<sup>65,66</sup>

En los últimos años ha habido avances en este campo y se ha propuesto utilizar el contraste glandular como un nuevo indicador para evaluar la gravedad de las patologías de las GM, ya que se ha observado que el contraste es menor en sujetos con patologías de estas glándulas. La combinación del Deep Learning con técnicas avanzadas de procesamiento de imagen podría optimizar aún más la detección y caracterización de anomalías glandulares. Esto sería especialmente útil para la detección temprana de patología de las GM.

### **1.8 Ciclos circadianos y secreción lagrimal**

Los ciclos circadianos son fluctuaciones biológicas internas que siguen un ciclo de aproximadamente 24 horas, regulando funciones fisiológicas y comportamentales en armonía con el ritmo de luz y oscuridad del entorno.<sup>67</sup> Estos ciclos están controlados por el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, que actúa como el “reloj biológico central” y tienen un impacto profundo sobre una amplia gama de procesos biológicos<sup>68</sup>. Entre muchas de las funciones influenciadas por los ritmos circadianos se encuentra la producción lagrimal, un proceso esencial para la salud ocular y la homeostasis de la superficie ocular.<sup>69</sup>

La secreción lagrimal sigue un patrón circadiano bien definido. Durante el día, la producción lagrimal es más alta, principalmente debido a los niveles elevados de cortisol y a la actividad del sistema nervioso simpático, lo que permite mantener una adecuada lubricación y protección del ojo. Por la noche, este proceso disminuye significativamente, influido por el aumento de la melatonina y la menor estimulación del sistema nervioso autónomo.<sup>67</sup>

Un indicador importante de la variación circadiana de la secreción lagrimal son los meniscos lagrimales, ubicados en los bordes superior e inferior de los párpados. Estos

meniscos, representan un porcentaje de entre el 75% y el 90% de la película lagrimal <sup>70</sup>, reflejan los cambios en la secreción lagrimal a lo largo del día. Estudios como el de Shen *et al* <sup>71</sup> han documentado que los meniscos lagrimales presentan fluctuaciones significativas en su volumen durante el día, evidenciando un patrón predecible que sigue los ciclos circadianos. Al despertar, los meniscos lagrimales presentan su volumen máximo, un fenómeno que se atribuye a la acumulación de lagrime durante el periodo nocturno de inactividad y cierre ocular, lo que previene la evaporación lagrimal. Con el transcurso del día, el volumen del menisco disminuye gradualmente probablemente debido a la evaporación y la *decreencia* en la secreción lagrimal. <sup>71</sup>

El ritmo circadiano de la secreción lagrimal es esencial para el mantenimiento de la salud ocular, ya que asegura la hidratación de la superficie ocular. Sin embargo, diversos factores como la diabetes, los trastornos del sueño, el desfase horario, la falta de descanso, las dietas ricas en grasas pueden alterar el ciclo. Alteraciones en estos ritmos pueden dar lugar a problemas como el ojo seco, irritación ocular o visión borrosa. <sup>69</sup>

El patrón circadiano refleja también la capacidad adaptativa del sistema lagrimal ante los cambios ambientales y biológicos, lo que subraya la importancia de comprender estos mecanismos para mejorar el diagnóstico y tratamiento de las afecciones oculares asociadas.

## ***CAPITULO 2: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL***

### **2.1 JUSTIFICACIÓN**

Las glándulas de Meibomio (GM) desempeñan un papel crucial en la salud de la superficie ocular y en el mantenimiento de la integridad de la película lagrimal. Estas glándulas, localizadas en las placas tarsales de los párpados, secretan una sustancia lipídica, conocida como meibum, que forma la capa lipídica de la película lagrimal. Este componente es esencial para evitar la evaporación de la lagrime, proporcionando una barrera protectora frente a factores externos, lubrica los párpados durante el parpadeo y proporciona una superficie óptica lisa.<sup>1,7,8</sup>

Estas glándulas vierten el meibum a la película lagrimal a través de un proceso de secreción holocrina. Durante el parpadeo, las glándulas liberan el meibum, que se distribuye por la superficie ocular. Cuando las GM no funcionan adecuadamente, el equilibrio de la película lagrimal se desestabiliza, lo que genera síntomas que afectan considerablemente a la calidad de vida de quienes lo padecen.<sup>4</sup>

Dada la importancia de estas glándulas en la salud ocular, resulta fundamental contar con métodos precisos de evaluación y diagnóstico. Sin embargo, aún no existe un consenso general sobre las pruebas necesarias para evaluarlas. Actualmente, el diagnóstico se basa en una combinación de test clínicos y de sintomatología, que incluyen desde cuestionarios de síntomas hasta evaluaciones de estabilidad de la película lagrimal. Dentro de las técnicas de imagen para la observación y evaluación de las GM, destaca la meibografía, es la técnica más empleada para estudiar la estructura y funcionalidad de las GM. Esta técnica desarrollada hace más de cuatro décadas, ha evolucionado, mejorando tanto en la comodidad para el paciente como en la calidad de sus imágenes. Mientras que los primeros meibógrafos empleaban luz ultravioleta (UV), en la actualidad emplean luz infrarroja (IR) debido a su capacidad para visualizar de manera más efectiva las GM.<sup>22,31,44</sup>

Estudios recientes han mostrado la viabilidad de utilizar luz visible para la observación y análisis de estas glándulas, lo cual abre nuevas posibilidades para adaptar esta técnica a equipos clínicos más comunes.<sup>72,73</sup> La exploración de diferentes fuentes de iluminación para visualizar las GM es un campo de investigación relevante, ya que podría hacer posible el uso de dispositivos más accesibles como la lámpara de hendidura, para el

diagnóstico de alteraciones de las GM, ya que el alto coste de los equipos que emplean luz IR limita el acceso de muchos clínicos a técnicas de meibografía. La incorporación de tecnologías asequibles podría representar un avance significativo en el diagnóstico y seguimiento de patologías de las GM, facilitando una atención más generalizada y efectiva para los pacientes. Dada la mayoritaria adopción de dispositivos móviles equipados con cámaras fotográficas de alta calidad, surge la pregunta de si sería posible utilizar dichos dispositivos como herramientas diagnósticas de patologías de GM.

A partir de las imágenes obtenidas mediante meibografía es posible extraer datos valiosos sobre la morfología y la estructura de las GM, lo que proporciona una visión detallada del estado y funcionalidad de estas glándulas. Además, el análisis digital de estas imágenes permite obtener parámetros específicos, como el contraste de las glándulas, lo que podría actuar como un marcador útil para identificar y diferenciar patologías relacionadas. Comprender como y por qué el contraste de las GM varía a lo largo del día, y si estas variaciones están asociadas a condiciones de normalidad o patología de las glándulas resulta esencial para el avance de su diagnóstico y tratamiento.

El procesamiento digital ha permitido avances significativos no solo en el diagnóstico inicial sino también en el seguimiento de patologías asociadas. Mejorar la accesibilidad y precisión de estas técnicas permitirá no solo una mayor comprensión de la función de las GM, sino también un abordaje clínico más eficiente, lo cual contribuirá a mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados por patologías relacionadas con estas glándulas.

El título de la tesis doctoral "Estudio de las propiedades ópticas de las glándulas de Meibomio" hace referencia a cómo la luz interactúa con las glándulas de Meibomio y cómo distintos métodos de imagen permiten caracterizar la estructura de estas. Se exploran diferentes condiciones de iluminación y técnicas de análisis para optimizar su observación y diagnóstico, lo que facilita la detección de alteraciones glandulares. Al estudiar estas propiedades, esta tesis busca contribuir al desarrollo de herramientas más accesibles y eficientes para la evaluación clínica de las GM, favoreciendo una mejor comprensión de su función y su relación con la salud ocular.

## **2.2 HIPOTESIS**

A partir de los antecedentes presentados, surgen varias preguntas que se abordan en los estudios de esta tesis doctoral.

En este contexto, se plantea el desarrollo de una aplicación móvil que permita la visualización y análisis de imágenes de las glándulas de Meibomio, facilitando su evaluación en diversos entornos clínicos y de investigación. Como paso previo a dicho desarrollo resulta imprescindible la evaluación de las meibografías tomadas por un dispositivo móvil y su comparación con las meibografías capturadas por sistemas comerciales.

Asimismo, se propone la aplicación de técnicas de Deep Learning (DL) para la clasificación de imágenes de las glándulas de Meibomio, aprovechando su capacidad para extraer automáticamente características relevantes sin necesidad de intervención manual. Las redes neuronales convolucionales (CNNs) han demostrado ser altamente eficaces en el análisis de imágenes médicas, permitiendo segmentar y clasificar patrones glandulares con alta precisión. Su implementación en el procesamiento de imágenes meibográficas podría optimizar la detección de anomalías y mejorar el diagnóstico de patologías asociadas a la disfunción de las GM.

Además, se propone investigar cómo varía el contraste glandular a lo largo del día en diferentes grupos de sujetos, para comprender mejor el funcionamiento de la secreción de las GM y determinar si la presencia de patologías relacionadas con estas glándulas influye en la variabilidad del contraste. Al analizar estas fluctuaciones a diferentes horas del día, se espera obtener información valiosa que permita identificar patrones en la función de las glándulas, así como su posible impacto en la salud ocular. Esta comprensión podría ser crucial para desarrollar estrategias de diagnóstico y tratamientos más eficaces, adaptadas a las necesidades específicas de cada paciente.

### **2.3 OBJETIVOS**

A partir de los antecedentes expuestos, se ha identificado la necesidad de profundizar en estos temas. Para abordar las preguntas surgidas de esta revisión, se establecen los siguientes objetivos específicos:

- Comparar técnicas de meibografía empleando luz infrarroja y luz visible.
- Desarrollar y validar un meibógrafo móvil experimental el cual emplea luz visible.
- Desarrollar y entrenar un modelo de redes neuronales convolucionales (CNNs) para la clasificación de imágenes meibográficas.
- Evaluar la variación del contraste glandular diurno en diferentes grupos, estudiando su posible correlación con la morfología y fisiología glandular.

- Explorar el impacto de la variabilidad del contraste glandular en el diagnóstico clínico, evaluando su potencial como marcador de patología para la detección temprana de disfunciones en las GM.

## ***CAPÍTULO 3: ESTUDIOS PRELIMINARES***

Este capítulo presenta un análisis detallado de los estudios preliminares realizados en el contexto de la tesis doctoral. Aunque estos trabajos no son originales de esta tesis, han desempeñado un papel crucial en el desarrollo del proyecto al proporcionar una base sólida para entender el contraste glandular como herramienta clave para evaluar la salud de las GM y su implicación en diversas patologías oculares.

### **3.1 INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, el interés en la investigación en las GM ha experimentado un crecimiento significativo, debido principalmente a su estrecha relación con diversas afecciones oculares, especialmente con el síndrome de ojo seco. Estas glándulas desempeñan un papel esencial en la producción del meibum, y su alteración puede comprometer esta función y dar lugar, como consecuencia, a una evaporación temprana de la lágrima, agravando los síntomas de ojo seco.<sup>74,75</sup> Debido a los efectos adversos que resultan de las anomalías de las GM, se han desarrollado diversas técnicas para su análisis y observación.

La visualización de las glándulas de Meibomio es una parte crucial del examen clínico cuando se sospechan patologías oculares relacionadas con el ojo seco, nos permite obtener información esencial sobre el número de glándulas que tiene un sujeto, su pérdida total o parcial, su tortuosidad y su grosor. Como se ha explicado con anterioridad, la fotografía de la conjuntiva tarsal, incluyendo las glándulas de Meibomio, se denomina meibografía. Las técnicas que conocemos para determinar el estado y el abandono glandular se basan en escalas de gradación con las que las meibografías son evaluadas de forma subjetiva, no hay estándares establecidos ni acordados para la clasificación de las GM.<sup>25,54,55,56,76</sup>

Con el fin de superar las limitaciones de la subjetividad en la evaluación, se han desarrollado técnicas automáticas que permiten analizar las GM de manera más objetiva. Estas técnicas emplean dispositivos avanzados, como el Oculus Keratograph 5M™, para obtener imágenes de alta resolución de las glándulas. Mediante algoritmos de procesamiento de imagen, estas técnicas automáticas son capaces de detectar la estructura glandular y evaluar su integridad con mayor precisión.<sup>77,78,79</sup> En el ámbito de la investigación de las GM, la meibografía se ha consolidado como una herramienta esencial para evaluar la salud de estas glándulas.

El indicador principal es el grado de pérdida glandular y se puede acompañar de indicadores secundarios. El contraste se ha propuesto como un posible indicador secundario o marcador que nos puede dar información sobre el estado de las GM.

Es evidente que la meibografía es una técnica sencilla y eficaz para evaluar el estado de las glándulas, sin embargo, la fiabilidad de la meibografía es dependiente de la calidad de las imágenes de la conjuntiva tarsal que, dependiendo del instrumento y del grado de externalización de la glándula, puede llegar a ser muy variable.

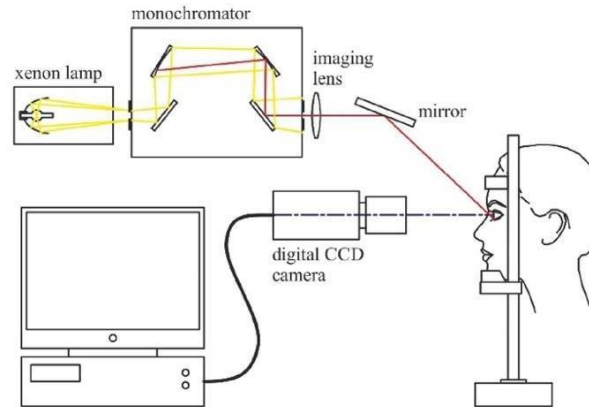
Por lo mencionado anteriormente, es fundamental mejorar el sistema de imágenes. Asimismo, es esencial investigar la viabilidad de utilizar luz roja, como en los estudios de Peral *et al.*<sup>72</sup> y Lee<sup>73</sup>, en lugar de luz infrarroja, ya que esto facilitaría el uso de configuraciones más asequibles y simples para obtener las imágenes y clasificar las glándulas de Meibomio, tanto de manera manual como automática.

### **3.2 FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN Y CONTEXTO DE ESTUDIOS REALIZADOS**

En este apartado se describe brevemente un estudio donde se muestra la relación entre el contraste de las GM y las longitudes de onda en los rangos visible e infrarrojo, empleadas en el proceso de obtención de imágenes. El propósito del estudio fue encontrar la longitud de onda visible que permitiera observar las GM con el mayor contraste posible, mejorando así la visualización de estas.

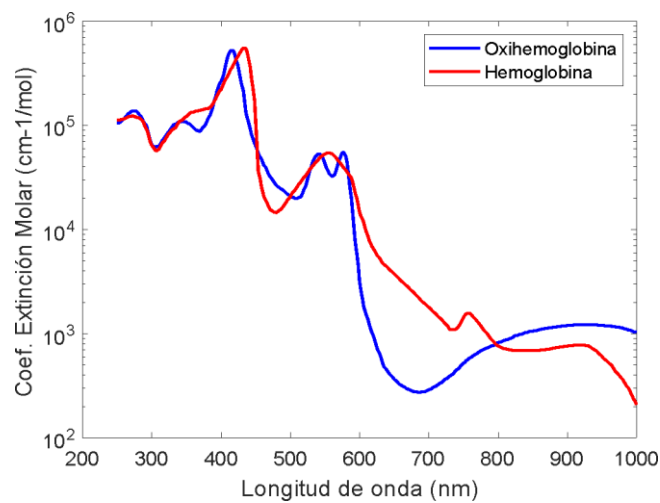
El estudio llevado a cabo en 2018 por Peral *et al.*<sup>72</sup>, se enfocó en la cuantificación del contraste de las GM y demostró la relación entre dicho contraste y las longitudes de onda de luz infrarroja y visibles utilizadas para la obtención de las imágenes. Para llevar a cabo esta investigación, se empleó un algoritmo de procesamiento de imágenes que se basaba en la detección de los máximos y mínimos de intensidad dentro y entre las glándulas, lo que arrojó como resultado que los extremos del rango espectral estudiado (600-900 nm) son preferibles para la evaluación de las GM, ya que proporcionan entre un 30-40% más de contraste que las restantes longitudes de onda.

Asimismo, se determinó que el contraste promedio tanto entre glándulas como dentro de ellas era mayor para una longitud de onda baja (600nm) que para una longitud de onda intermedia (775nm). Este hallazgo reviste gran importancia, dado que sugiere que al iluminar el párpado con una longitud de onda cercana a los 600 nm se obtendrá un mayor contraste.



**Figura 6: esquema del dispositivo experimental para la visualización de las GM. Imagen obtenida de Peral *et al.* <sup>72</sup>**

El principal obstáculo que conlleva el uso de luz visible en Meibografía es que, con luz visible se observan las imágenes de las venas/arterias del tejido palpebral superpuestas a las imágenes de las glándulas. No obstante, para longitudes de onda superiores a los 600 nm, el espectro de absorción tanto de la hemoglobina como de la oxihemoglobina experimenta un brusco descenso, como puede verse en la Figura 7 lo que ocasiona que los vasos sanguíneos sean prácticamente invisibles para dichas longitudes de onda.



**Figura 7: Variación del coeficiente de extinción molar de la oxihemoglobina (azul) y la hemoglobina (rojo) en función de la longitud de onda.**

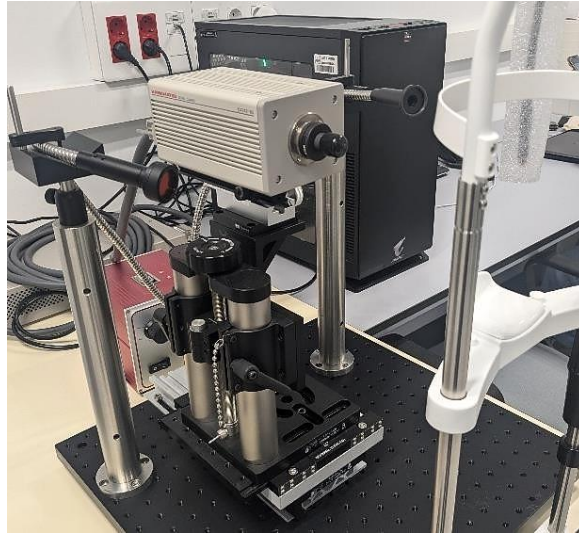
Los resultados de este estudio revelaron la posibilidad de emplear estas longitudes de onda para evaluar el contraste de las glándulas como un parámetro objetivo para la detección y diagnóstico de anomalías de las GM y evaluar con mayor precisión su estado, mejorando las escalas de gradación.

### **3.2.1 Desarrollo y funcionamiento del meibógrafo de luz visible VisMeib**

Ante la importancia de encontrar un método de medida estandarizado y económico para la visualización de las GM, se ha desarrollado en este trabajo de tesis doctoral una técnica objetiva fundada en la meibografía de no-contacto en el rango espectral del visible, combinando una iluminación visible de banda estrecha en un rango espectral cercano a los 600 nm, con una cámara CCD/CMOS que captura las imágenes.

El resultado de esta investigación ha sido el desarrollo y puesta a punto de un dispositivo experimental (llamado VisMeib) de observación y captura de imágenes meibográficas, diseñado para visualizar tanto el tejido como las estructuras subconjuntivales de los párpados mediante luz visible de espectro estrecho gracias al uso de filtros pasa banda. Este dispositivo se ha empleado para la captura de imágenes de las GM a lo largo de la tesis.

El dispositivo VisMeib se compone de tres sistemas principales: iluminación, posicionamiento y observación. El sistema de iluminación utiliza mazos flexibles con luz halógena (300-1800 nm) y filtros ópticos para seleccionar longitudes de onda específicas dirigidas al ojo. El sistema de posicionamiento cuenta con una plataforma de desplazamiento horizontal y vertical para estabilidad y ajuste preciso. El sistema de observación incluye una cámara CMOS monocromática conectada a un ordenador con software de control y montada sobre un desplazador lineal para un enfoque preciso. A continuación, se muestra una imagen del meibógrafo VisMeib.



**Figura 8: fotografía del meibógrafo de luz blanca (VisMeib)**

Para los experimentos de esta tesis doctoral se realizaron algunos cambios para la mejora del meibógrafo, donde se sustituyó la cámara del sistema de observación por una cámara CCD de refrigeración activa, modelo C4742-96 ORCA-285 del fabricante Hamamatsu. Esta modificación se realizó con el fin de tener mayor rango dinámico y menor ruido. También se sustituyó el objetivo Pentax 2514-M por un objetivo macro de aumento 0.33x fabricado por OptoEngineering srl, lo cual mejora la resolución de las imágenes de la conjuntiva tarsal.

- ***Definición de contraste intra- e inter-glandular***

Antes de presentar el software de cálculo que utiliza el dispositivo VisMeib, se va a mostrar la definición de contraste *intra-glándula e inter-glándula*. En relación con el contraste inter-glándula, debido a la reflectancia mayor que presentan las glándulas frente al tejido que las rodea, la imagen de la conjuntiva tarsal se asemeja a un patrón de franjas brillantes sobre un fondo oscuro, y por lo tanto hace que sea factible calcular el contraste entre las glándulas y el fondo de la conjuntiva tarsal, que denominaremos contraste inter-glandular (CINTER).<sup>80,81</sup> Utilizando la definición de contraste de franjas de Michelson,<sup>82</sup> la ecuación sería:

$$C = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (1)$$

Alternativamente, también se puede definir el contraste glandular como Yeh y Lin <sup>83</sup>:

$$C = I_{max} - I_{min} \quad (2)$$

Los valores de  $I_{max}$  e  $I_{min}$  representan, respectivamente, las intensidades máximas (correspondiente a una glándula) y mínimas (correspondiente a la zona inter-glándula), para ambas ecuaciones.

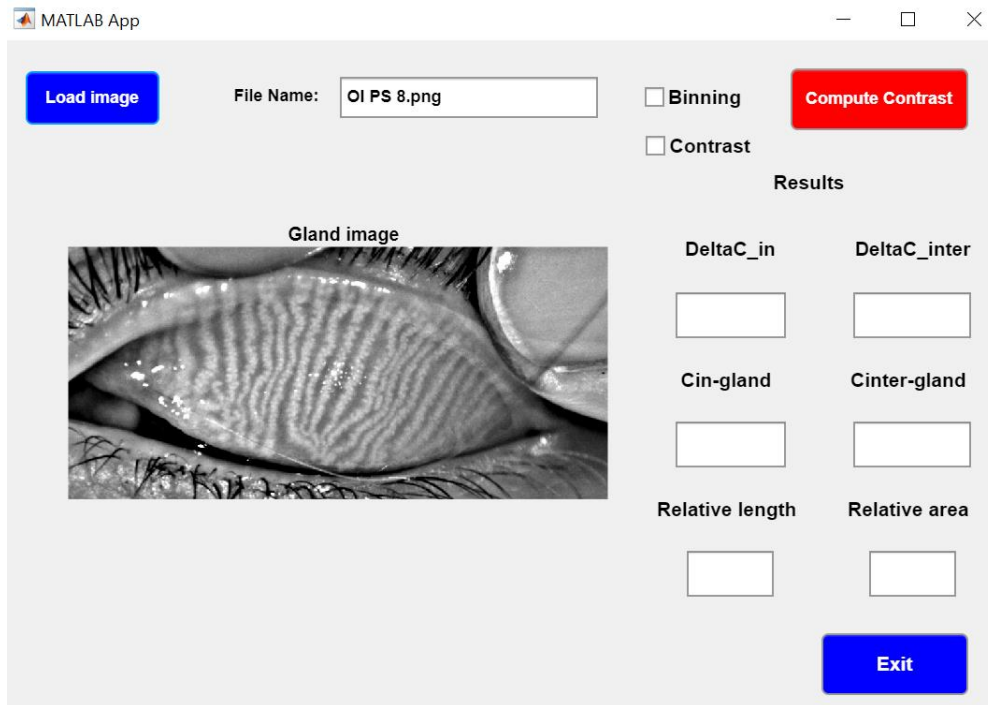
Por otro lado, la estructura interna de una glándula se asemeja a un racimo de uvas, observándose variaciones de contraste entre acinos que son más brillantes y otros que son más oscuros. Lo que lleva a definir el llamado contraste intra-glandular (CIN) entre los diferentes acinos de una misma glándula. Para calcular dicho contraste se pueden usar también las ecuaciones (1) o (2) con la salvedad de que la intensidad máxima se correspondería a un punto situado en el interior de uno de los acinos glandulares y a la mínima a un punto de la frontera entre acinos próximos. Una vez definido los contrastes CIN y CINTER, vamos a mostrar el método automático de cálculo de estos que utiliza el software asociado al programa VisMeib.

- ***Calculo automático de los contrastes inter- e intra-glándula.***

Una vez capturadas las imágenes de las glándulas, se procesan mediante un software en MATLAB ([mathworks.com](http://mathworks.com)) <sup>58</sup>. Se calculan los contrastes intra-glandular (CIN) e inter-glandular (CINTER) mediante el contraste de Michelson <sup>82</sup>, además de otros parámetros como el área y anchura relativa de las glándulas. El procesamiento inicia con la selección manual de la región de interés (ROI), seguida de un filtrado de fondo mediante un filtro de mediana. Luego, se mejora el contraste restando el fondo de la imagen original y ajustando su brillo. Para segmentar las glándulas, se aplica un proceso de umbralización que genera una imagen binaria, donde las glándulas aparecen en blanco y el resto en negro. Posteriormente, se identifican los acinos detectando los máximos locales de intensidad y se delimitan sus fronteras ubicando los mínimos locales. Con esta información, se calcula el contraste intra-glandular a partir de pares de puntos dentro de cada glándula, asegurando que la distancia entre ellos sea menor que su ancho. Finalmente, se determina el contraste inter-glandular analizando la diferencia de intensidad entre los acinos y los puntos con menor luminancia en la región entre glándulas, promediando los valores obtenidos para generar el resultado final. Este

procedimiento se muestra con mayor detalle en la tesis de Elena Diz<sup>84</sup>. A continuación, se muestra una captura de pantalla de la aplicación desarrollada

a)



b)



**Figura 9:** a) Captura de pantalla de la aplicación antes de procesar la imagen cargada. b) La misma imagen tras el procesamiento de la región de interés (ROI) que incluye las ocho glándulas centrales.

Seguidamente, se presentan los estudios preliminares llevados a cabo para evaluar técnicas en la visualización y análisis de las GM. Si bien estos estudios no son originales en cuanto a su presentación, he tenido el privilegio de haber participado activamente en su desarrollo y ejecución, y son una parte esencial para el desarrollo de esta tesis. Los estudios incluyen, por un lado, la exploración del contraste de las GM como marcador de patología de estas y, por otro lado, se analiza la viabilidad de utilizar luz visible en lugar de infrarroja para la evaluación de estas glándulas. Ambos aspectos son fundamentales para avanzar en el diagnóstico y tratamiento de patologías relacionadas con las GM.

### **3.3 ESTUDIO DE LOS CONTRASTES DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO**

#### **3.3.1 Objetivo del estudio**

La meibografía es una técnica utilizada para evaluar el estado de las glándulas de Meibomio (GM), aunque en muchas ocasiones las imágenes obtenidas presentan bajo contraste, dificultando su análisis. Para solucionar esto, se han desarrollado mejoras en los sistemas de captura y en las técnicas de procesamiento de imágenes, permitiendo una segmentación más precisa de las glándulas. Esto ha llevado a la adopción de métodos objetivos que reemplazan la evaluación subjetiva tradicional, facilitando la cuantificación reproducible de la anatomía y función glandular. Investigaciones recientes<sup>7,83,85,86</sup> han sugerido que el contraste de las GM podría ser un marcador útil para identificar patologías oculares, como el ojo seco por deficiencia lipídica, y han demostrado que el contraste inter-glandular es mayor con longitudes de onda cercanas a los 850 nm. Sin embargo, aún existen desafíos metodológicos e instrumentales en la optimización de estos análisis.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la influencia del método de análisis del contraste en la diferenciación entre ojos sanos y afectados, así como determinar si el contraste intra-glándula e inter-glándula son igualmente efectivos como biomarcadores. Además, se analizará el impacto de la mejora del contraste en la utilidad de este parámetro para la detección de patologías oculares, contribuyendo así a la optimización de la meibografía como herramienta clínica.

#### **3.3.2 Material y métodos**

Para el estudio fueron reclutados 40 participantes, quienes dieron su consentimiento informado. Se obtuvieron imágenes de meibografía de ambos párpados con el Oculus Keratograph 5M™, y el contraste intra – e inter-glandular se analizó mediante un software

personalizado (<https://github.com/InforUCM/ContrasteMG>)<sup>87</sup>, evaluando las imágenes sin procesar y las mejoradas.

Los participantes fueron divididos en grupo control (OSDI <15, sin alteraciones en las GM) y grupo con patología (OSDI >15, diagnóstico confirmado de DGM o blefaritis y pérdida glandular >25%). La metodología completa se describe en la referencia.<sup>84</sup>

### **3.3.3 Imágenes meibográficas para el análisis del contraste**

Se capturaron imágenes de los párpados superior e inferior con el K5M. Para cada participante, se obtuvieron dos imágenes por párpado: **K5M C**, con contraste mejorado mediante el algoritmo del dispositivo, y **K5M R**, sin procesar. Además, se generó una tercera imagen, **K5M RC**, aplicando el algoritmo basado en la ecualización adaptativa de histograma con contraste limitado (siglas en inglés CLHAE)<sup>88</sup> a la imagen sin procesar (K5M C) para evaluar su impacto en el contraste glandular. El software calculó los contrastes CIN y CINTER según la ecuación de Michelson (ecuación 1) y  $\delta$ CIN y  $\delta$ CINTER según la ecuación de Yeh (ecuación 2).

### **3.3.4 Análisis estadístico**

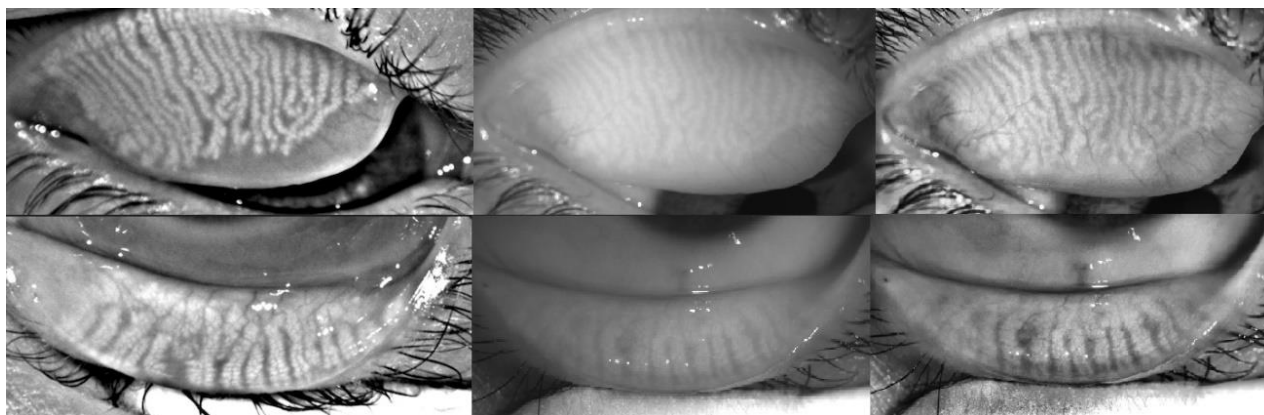
Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó la calculadora Granmo v.7.12 (<https://www.datarus.eu/aplicaciones/granmo/>). Para el análisis estadístico de los datos, se utilizaron Microsoft Excel v.15.30 y SPSS® 22. La normalidad se verificó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para comparar las diferencias de contraste entre los grupos control y patología.

### **3.3.5 Resultados clínicos**

El estudio incluyó 40 ojos de 40 participantes (20 en el grupo control y 20 con patología). Se encontraron diferencias significativas en la distribución por sexo, con más mujeres en el grupo control ( $p=0.03$ ). Los síntomas de ojo seco fueron más intensos en el grupo con patología, según el test OSDI ( $p<0.001$ ) y el test VAS para irritación, dolor, ardor y fotofobia ( $p\leq 0.03$ ). Además, los signos clínicos fueron más severos en el grupo con patología, con diferencias significativas en el tiempo de ruptura lagrimal, conjuntiva bulbar, telangiectasias, irregularidad palpebral, calidad del meibum y meiboscores ( $p\leq 0.04$ ). Resultados adjuntos en el anexo A.7.

### 3.3.6 Resultados del contraste de las glándulas de Meibomio

Las siguientes meibografías muestran las diferentes imágenes utilizadas (K5M C, K5M R y K5M RC) para calcular el contraste en el análisis de las GM de un sujeto control, permitiendo una visualización de la morfología del párpado superior como del inferior.



**Figura 10: imágenes meibográficas del PS y PI con K5M pertenecientes a un mismo participante del grupo control. En las imágenes se observan los tres tipos de contraste analizados: K5M C (izquierda); K5M R (centro); K5M RC (derecha).**

Los contrastes de las GM observados mostraron las siguientes tendencias: El contraste intra- glandular (CIN), medido mediante el método de Michelson, resultó ser similar o equivalente en ambos grupos.

Sin embargo, el parámetro  $\delta$ CIN, contraste intra-glandular calculado mediante el método de Yeh y Lin, fue ligeramente menor en el grupo con patología.

En cuanto al contraste inter-glandular (CINTER) fue consistentemente inferior en el grupo con patología para todos los tipos de imágenes (K5M C, K5M R y K5M RC), según ambos métodos.

Los resultados se observan en la tabla 2. La probabilidad conjunta de estos hallazgos fue alta 0.824, lo que confirma la fiabilidad de los resultados.

Michelson		K5M C		K5M R		K5M RC	
		CIN	CINTER	CIN	CINTER	CIN	CINTER
Control	PS	5 ± 1	18 ± 3	3 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	14 ± 3
	PI	5 ± 1	22 ± 7	3 ± 1	7 ± 1	6 ± 1	19 ± 3
Patología	PS	5 ± 1	15 ± 4	3 ± 1	6 ± 3	4 ± 1	13 ± 3
	PI	5 ± 1	17 ± 4	3 ± 1	6 ± 2	5 ± 1	16 ± 4
<i>p</i> -Valor	PS	>0.05	<b>0.01*</b>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
	PI	>0.05	<b>0.001*</b>	>0.05	>0.05	<b>0.004*</b>	<b>0.007*</b>

Yeh		δCIN	δCINTER	δCIN	δCINTER	δCIN	δCINTER
Control	PS	18 ± 3	56 ± 12	8 ± 2	17 ± 2	16 ± 4	43 ± 9
	PI	20 ± 3	62 ± 13	10 ± 3	22 ± 5	21 ± 4	61 ± 9
Patología	PS	16 ± 3	46 ± 12	7 ± 1	16 ± 3	14 ± 4	39 ± 11
	PI	18 ± 4	55 ± 15	10 ± 4	22 ± 8	18 ± 4	54 ± 11
<i>p</i> -Valor	PS	>0.05	<b>0.01*</b>	<b>0.05*</b>	>0.05	>0.05	>0.05
	PI	>0.05	<b>0.04*</b>	>0.05	>0.05	<b>0.03*</b>	<b>0.01*</b>

\*Diferencias estadísticamente significativas

**Tabla 2: contraste promedio y su desviación estándar calculados para cada párpado, el tipo de contraste de imagen y el grupo de estudio. Los resultados obtenidos con el contraste de Michelson se localizan en la parte superior y los de Yeh y Lin en la parte inferior. Los *p*-valores indican las comparaciones entre el grupo control y el patológico. Todas las mediciones se realizaron de forma independiente para los párpados superior (PS) e inferior (PI).**

En la Figura 11 se muestra la distribución de los contrastes CIN y CINTER en un gráfico de tipo caja y bigotes (“boxplot”). Como se puede apreciar, el contraste medio CIN es inferior al contraste medio CINTER, observándose además que el rango de dispersión es mayor en CINTER.

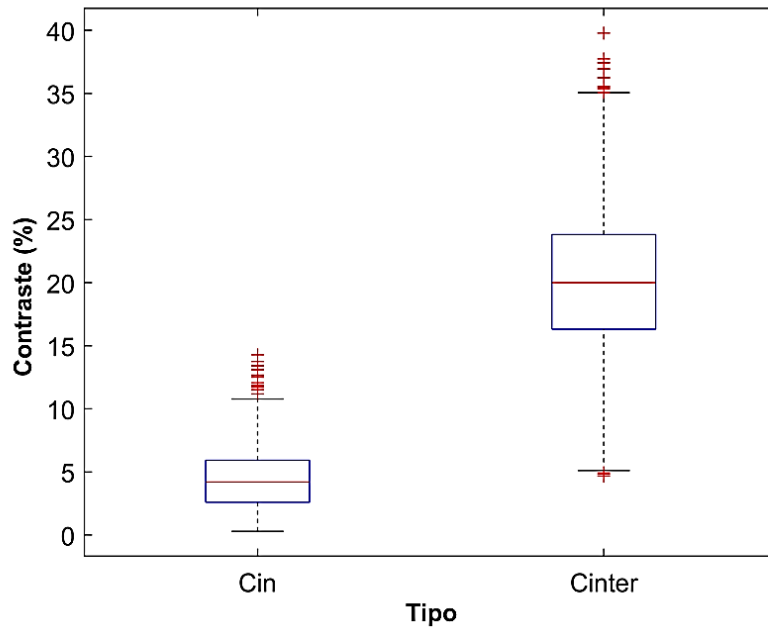


Figura 11: medidas de CIN y CINTER utilizando el contraste de Michelson

### 3.3.7 Conclusiones del estudio

El estudio concluye que la medida del contraste en las glándulas de Meibomio (GM) puede ser un marcador útil para detectar patologías. Se encontró que el contraste intra-glandular es menor en sujetos con patología, posiblemente debido a alteraciones estructurales. Además, el contraste inter-glandular resultó ser un mejor discriminador entre sujetos sanos y con patología.

El preprocesamiento de imágenes mejoró la capacidad de diferenciación, especialmente con el software propietario del Oculus K5M, destacando la importancia de la optimización del contraste. También se identificaron factores instrumentales, como la curvatura del párpado y los reflejos, que pueden afectar a la medida, sugiriendo que la evaluación debe centrarse en la zona central del párpado.

### **3.4 ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DEL FILTRO DENTRO DEL ESPECTRO VISIBLE QUE MEJOR CONTRASTE APORTA PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO.**

#### **3.4.1 Objetivo del estudio**

El dispositivo más comúnmente utilizado para la captura de imágenes meibograficas es el Oculus Keratograph 5M™ (K5M), considerado como el “Gold Standard” en esta área. En estudios previos, como el Peral *et al.*<sup>72</sup>, se determinaron mayores tasas de contraste, tanto entre glándulas como dentro de la glándula, en el espectro visible con longitudes de onda cercanas a los 600nm.

Este estudio tiene como objetivo evaluar la eficacia de cuatro filtros de longitudes de onda en el espectro visible (610, 630, 645 y 665 nm) para la observación directa de las glándulas de Meibomio (GM) en individuos sanos y con alteraciones patológicas, como la disfunción de glándulas de Meibomio (DGM) o blefaritis. Para ello, se utiliza el dispositivo VisMeib, diseñado específicamente para la observación in vivo de las GM, el cual emplea estos filtros acoplados a una fuente de luz halógena y una videocámara para capturar imágenes de las glándulas en el área de la conjuntiva tarsal. Adicionalmente, se evaluó la repetibilidad de las medidas obtenidas con el VisMeib para asegurar consistencia en los resultados.

#### **3.4.2 Metodología del estudio**

El estudio piloto, prospectivo, comparativo y observacional incluyó a 36 participantes (19 en el grupo control y 17 con patología de las GM) para determinar el mejor filtro para la visualización de las GM.

Los criterios de inclusión para el grupo control fueron adultos mayores de 18 años, sin patologías oculares, sin uso de lentes de contacto, con puntuación OSDI menor a 15. Para el grupo con patología, los participantes debían tener un diagnóstico confirmado de alteración en las glándulas de Meibomio (como blefaritis o DGM) y una puntuación OSDI de 15 o más.

El estudio se realizó en dos visitas: en la primera, se realizaron diversas pruebas clínicas, y en la segunda, se capturaron imágenes de las glándulas utilizando filtros de longitudes

de onda de 610, 630, 645 y 665 nm. En cada sesión, el proceso se repitió tres veces para evaluar la repetibilidad del dispositivo. Metodología completa en referencia.<sup>84</sup>



**Figura 12: fotografía de los filtros empleados para la captura las imágenes con el meibógrafo de luz visible (VisMeib)**

Se obtuvieron imágenes de cada párpado utilizando cada uno de los filtros mencionados, estas imágenes fueron procesadas con Matlab y como resultado de este proceso, obtuvimos el contraste dentro de las glándulas (CIN), el contraste entre glándulas adyacentes (CINTER), la anchura relativa de las glándulas (RLG) y el área relativa de las mismas (RGA).

También se evaluó el grado de pérdida glandular (meiboscore). El meiboscore fue gradado por una sola persona, utilizando la escala de Pult *et al*<sup>55</sup>, con las imágenes de las GM enmascaradas.

### **3.4.3 Análisis estadístico**

Se utilizaron Microsoft Excel v.15.30 y el SPSS ® 22 para el análisis de datos, evaluando la normalidad de las variables, la repetibilidad de las medidas, las diferencias entre filtros y entre sujetos sanos y con patologías de las GM. Se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y se emplearon pruebas paramétricas, como t-Student y ANOVA para el análisis de los datos,<sup>89,90</sup> considerando un *p*-valor de 0,05 como significativo.

### 3.4.4 Resultados

El estudio incluyó 36 sujetos divididos en dos grupos: 19 en el grupo control (edad media  $26,16 \pm 1,67$  años) y 17 con patología de las GM (edad media  $39,94 \pm 3,43$  años). Se excluyeron 3 participantes por el uso de lentes de contacto.

#### - *Resultados del análisis clínico*

Los resultados clínicos indicaron que los sujetos con patología presentaron una sintomatología significativamente mayor en el test OSDI ( $22,8 \pm 4,5$  vs.  $9,4 \pm 1,8$ ;  $p=0,007$ ), sugiriendo un grado moderado de ojo seco. En el test VAS, mostraron puntuaciones más altas en sequedad, irritación, ardor, picor y fotofobia, con diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo control.

En las pruebas clínicas, el tiempo de ruptura lagrimal (TBUT) fue menor en el grupo con patología ( $3,7 \pm 0,2$  s vs.  $6,3 \pm 0,5$  s;  $p=0,002$ ). También se encontraron diferencias significativas en la irregularidad del margen palpebral, telangiectasias, taponamientos, calidad y expresión del meibum, todos más afectados en el grupo con patología. Los resultados del análisis clínico se adjuntan en el anexo A.7.

#### - *Resultados de los contrastes*

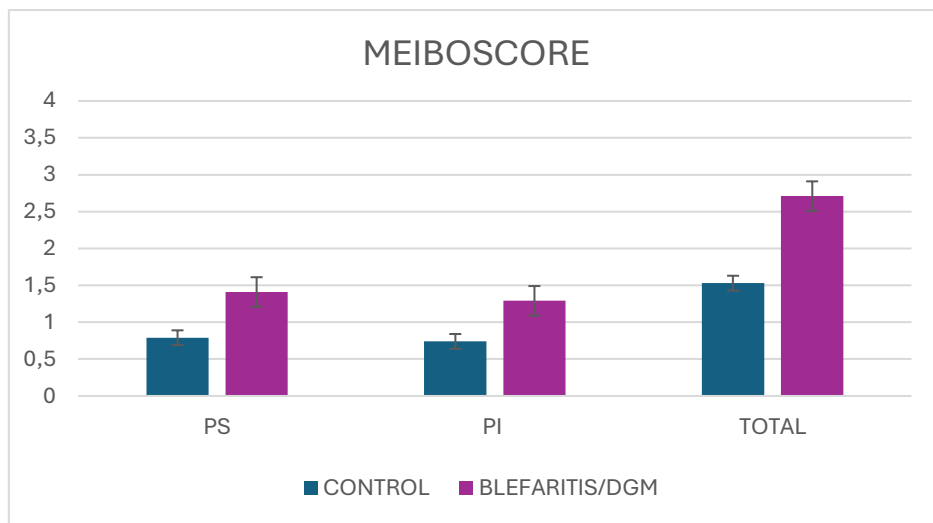
El análisis de repetibilidad del meibógrafo mostró valores favorables para CIN y CINTER ( $CCI > 0,7$ ), indicando mediciones consistentes. Se observó que el contraste glandular (CINTER) fue mayor en el párpado inferior y se redujo en el grupo con patología. No se hallaron diferencias significativas entre los filtros evaluados, pero en base a los resultados obtenidos se seleccionó el de 610 nm para la observación de las GM. Tablas de resultados de los contrastes adjuntas en anexo A.7.

Entre los grupos de control y patología se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en el meiboscore del PS, PI y el total. El grado de pérdida glandular en el PI y el PS del grupo control está cerca del grado 1, lo que indica una pérdida entre el 0% y el 25%. En el grupo con patología, los valores de pérdida glandular están entre el grado 1 y 2, lo que corresponde a una pérdida cuyo porcentaje es del 25%- 50%. Los resultados se muestran en la tabla 3.

<i>Meiboscore promedio ± SEM</i>			
	<b>Control (n=19)</b>	<b>Blefaritis/DGM (n=17)</b>	<b>p- valor</b>
<b>PS</b>	0.79±0.10	1.41±0.23	0.015*
<b>PI</b>	0.74±0.10	1.29±0.21	0.008*
<b>TOTAL</b>	1.53±0.10	2.71±0.21	0.013*

*\*Diferencias estadísticamente significativas*

**Tabla 3: meiboscore promedio para el grupo control y el grupo con patología en PS, PI y la suma de ambos párpados**



**Gráfica 1: meiboscore del PS, PI y del total para el grupo control y el de patología.**

### 3.4.5 Conclusiones

El estudio concluyó que no existen diferencias significativas entre los filtros analizados (610, 630, 645 y 665 nm) en términos de contraste inter- e intra-glandular, lo que sugiere que ninguno ofrece una ventaja clara sobre los demás para la observación de las glándulas de Meibomio (GM). Sin embargo, se observaron diferencias entre los párpados, siendo el contraste generalmente mayor en el párpado inferior en comparación con el superior.

El análisis de repetibilidad de las mediciones mostró una alta estabilidad en los valores de contraste glandular, con un coeficiente de correlación intraclass (CCI) superior a 0.7. No obstante, los parámetros de anchura y área relativa presentaron menor repetibilidad, posiblemente debido a las limitaciones del campo de visión del dispositivo utilizado.

En la comparación entre sujetos sanos y aquellos con patologías relacionadas con las GM, se encontraron diferencias significativas en el contraste inter-glandular del párpado inferior cuando se utilizaron los filtros de 610 nm y 665 nm. Este hallazgo sugiere que este parámetro podría ser un biomarcador útil para la evaluación de estas afecciones. Basándose en la estabilidad y claridad de las imágenes obtenidas, el estudio determinó que el filtro de 610 nm es el más adecuado para la observación de las GM.

Por último, el análisis del Meiboscore evidenció diferencias significativas entre los grupos control y patológico, mostrando una mayor pérdida de glándulas en los sujetos con patología, investigaciones anteriores han reportado estos hallazgos.<sup>91,92</sup>

### **3.5 ESTUDIO PARA LA VALIDACIÓN DEL FILTRO DE 610 NM POR COMPARACIÓN CON LAS IMÁGENES OBTENIDAS POR EL K5M**

#### **3.5.1 Objetivo del estudio**

En el presente estudio se llevó a cabo una comparación de las imágenes de meibografías obtenidas mediante dos instrumentos que emplean diferentes condiciones de iluminación para la visualización y captura de las GM. El primer instrumento utilizado es un dispositivo comercial considerado “Gold Standard” en meibografía, Oculus keratograph 5M™. Este dispositivo utiliza luz infrarroja centrada en 840 nm para iluminar las glándulas y captura las imágenes de las GM a través de una cámara infrarroja, acompañada de un software que mejora de forma significativa el contraste de las imágenes.<sup>31,45,93</sup> El segundo instrumento es un dispositivo experimental, previamente descrito en los apartados anteriores de este capítulo, el VisMeib. Este dispositivo emplea una fuente de luz visible combinada con un filtro pasa-banda rojo de 610 nm para la iluminación de las glándulas, ofreciendo una alternativa innovadora para la obtención de las imágenes de meibografía.

El propósito de este estudio fue evaluar y validar la eficacia del uso de luz visible junto con un filtro rojo de 610 nm para la visualización y captura de las imágenes de las GM en el párpado superior.

Adicionalmente, como objetivo secundario, se comparó la cuantificación de la pérdida glandular en las imágenes obtenidas con ambos dispositivos, esto permitió analizar la variabilidad inter observador e intra observador.



**Figura 13:** imagen de los dos dispositivos estudiados. A la derecha se muestra el K5M y en la izquierda el VisMeib.

### **3.5.2 Metodología y desarrollo del estudio**

Se trató de un estudio prospectivo con dos visitas, en el que participaron 20 sujetos, divididos en dos grupos: control (n=10) y con patología de las GM (n=10). Todos los participantes tenían más de 18 años y firmaron el consentimiento informado. Los criterios de inclusión para el grupo control excluían cualquier enfermedad sistémica o patología ocular, antecedentes de cirugía o trauma ocular, y el uso de lentes de contacto, mientras que el grupo con patología debía presentar una puntuación OSDI  $\geq 15$  y un diagnóstico confirmado de disfunción de las GM (DGM).

El procedimiento incluyó una evaluación inicial (visita 0), en la que los participantes fueron informados y sometidos a una valoración oftalmológica para confirmar el diagnóstico. En la visita 1, se realizaron cuestionarios de sintomatología, pruebas clínicas y se obtuvieron imágenes de meibografía con el dispositivo K5M. En la visita 2, se capturaron las imágenes de los párpados utilizando el meibógrafo de luz visible con un filtro de 610 nm. Para el análisis, se midieron los párpados superiores de ambos ojos y se seleccionó un ojo al azar en cada participante. Metodología completa en la referencia.<sup>84</sup>

### **3.5.3 Imágenes de meibografía y clasificación subjetiva**

Para la captura de las meibografías los párpados fueron evertidos por el mismo examinador para ambos dispositivos. Se capturaron y analizaron un total de 40 imágenes, 20 de cada dispositivo. Tres observadores especializados evaluaron las imágenes utilizando la escala de cinco grados de Pult *et al*<sup>55</sup>. Las imágenes fueron enmascaradas

y aleatorizadas antes de ser presentadas a los observadores para su calificación según la escala. El proceso se repitió una semana después, con las mismas imágenes aleatorizadas, permitiendo que las calificaciones se realizaran en dos sesiones (sesión 1 y sesión 2).

#### **3.5.4 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con Microsoft Excel v.15.30 y SPSS v.22.0. Se emplearon estadísticas descriptivas y la prueba W de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. La prueba U de Mann-Whitney se utilizó para comparar los signos clínicos entre el grupo control y el grupo con patología, mientras que la prueba de Wilcoxon se aplicó para analizar las diferencias en los meiboscores entre sesiones y métodos de gradación.

Las diferencias entre observadores se examinaron con el test de Friedman. Se usaron coeficientes de correlación y gráficos de Bland-Altman<sup>94</sup> para comparar los métodos de medición. Para evaluar la repetibilidad, se calcularon los coeficientes de repetibilidad (CoR) siguiendo el método de Bland-Altman. Además, se calculó el tamaño del efecto (ES).<sup>95</sup> Se analizó la variabilidad intra e interobservador usando los datos de las sesiones 1 y 2 de tres observadores expertos. En el estudio de correlación entre métodos, se utilizaron los datos de la sesión 1 y el observador I (OI). Un valor de  $p < 0.05$  se consideró significativo, con intervalos de confianza al 95%.

#### **3.5.5 Resultados**

El estudio incluyó a 20 participantes (13 mujeres y 7 hombres), con edades promedio de  $27,1 \pm 8,9$  años para el grupo control y  $36,3 \pm 15$  años para el grupo con patología.

##### **- Síntomas y signos clínicos:**

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las pruebas de sintomatología OSDI ( $p < 0,001$ ) y VAS ( $p < 0,05$ ), con síntomas de ojo seco más pronunciados en el grupo con patología. También hubo diferencias significativas en los signos clínicos, como el TBUT ( $p < 0,01$ ), tinciones en la conjuntiva bulbar ( $p < 0,001$ ), irregularidad del margen palpebral ( $p < 0,001$ ) y telangiectasias ( $p < 0,001$ ), siendo estos peores en el grupo con patología. concuerdan con lo descrito en la literatura.<sup>96,97,98</sup> Resultados adjuntos en el anexo A.7.

##### **- Análisis de variabilidad inter observador e intra observador**

Se evaluó la variabilidad inter e intraobservador en los meiboscores de dos sesiones. No se encontraron diferencias significativas en la evaluación intraobservador ( $p > 0,05$ ) en

ambos grupos, lo que indica consistencia entre las sesiones. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas interobservador en el grupo control al usar el K5M y en la sesión S1 del grupo con patología. Con el meibógrafo de luz visible, no se hallaron diferencias significativas entre observadores en ninguna de las sesiones para ambos grupos. Este resultado concuerda con lo reportado por Lee *et al.*<sup>73</sup> quienes también compararon la variabilidad de las gradaciones entre dos observadores diferentes. En cuanto a los meiboscores, la pérdida glandular promedio fue de entre 0 y 25% en el grupo control (grado 0-1), y superior al 25% en el grupo con patología (grado superior a 1). Estos resultados son consistentes con la literatura<sup>55,99</sup>. No se encontraron diferencias significativas en la clasificación de imágenes entre dispositivos, aunque los observadores tendieron a asignar meiboscores más altos a las imágenes del K5M en el grupo control. En el grupo con patología, los meiboscores fueron más altos en el meibógrafo de luz visible, probablemente debido a la menor densidad glandular, lo que mejora la visibilidad.

	Control				Patología			
	K5M		VisMeib		K5M		VisMeib	
(A)	Media ± SD	p-Valor	Media ± SD	p-Valor	Media ± SD	p-Valor	Media ± SD	p-Valor
OI-S1	0.5 ± 0.5	>0.05 ♦	0.3 ± 0.5	>0.05 ♦	1.5 ± 0.5	>0.05 ♦	1.5 ± 0.5	>0.05 ♦
OI-S2	0.5 ± 0.5		0.5 ± 0.7		1.5 ± 0.5		1.8 ± 0.6	
OII-S1	0.7 ± 0.5	>0.05 ♦	0.8 ± 0.6	>0.05 ♦	1.7 ± 0.8	>0.05 ♦	1.7 ± 0.8	>0.05 ♦
OII-S2	0.7 ± 0.7		0.4 ± 0.5		1.8 ± 0.9		1.9 ± 0.7	
OIII-S1	1.2 ± 0.6	>0.05 ♦	0.7 ± 0.7	>0.05 ♦	1.7 ± 0.8	>0.05 ♦	1.7 ± 0.8	>0.05 ♦
OIII-S2	1.2 ± 0.6		0.5 ± 0.5		1.8 ± 0.9		1.7 ± 0.8	
<b>(B)</b>								
S1: OI-OII-OIII	0.01 * ♦♦		>0.05 ♦♦		0.04* ♦♦		>0.05 ♦♦	
S2: OI-OII-OIII	<0.001 * ♦♦		>0.05 ♦♦		>0.05 ♦♦		>0.05 ♦♦	
OI; OI; OIII (Observadores I, II y III)								
S1; S2 (Sesiones de gradación 1 y 2).								
Test de Wilcoxon para muestras relacionados ♦ y test de Friedman ♦♦								
* Diferencias estadísticamente significativas.								

**Tabla 4:** (A) media y desviación estándar de los resultados de las gradaciones de las imágenes de meibografía realizadas por los tres observadores en las diferentes sesiones de gradación y p-valores para las comparaciones del mismo observador entre la sesión 1 y 2 (intraobservador). (B) p-valores para las diferencias entre observadores para cada sesión por separado (interobservador).

### - **Análisis repetibilidad**

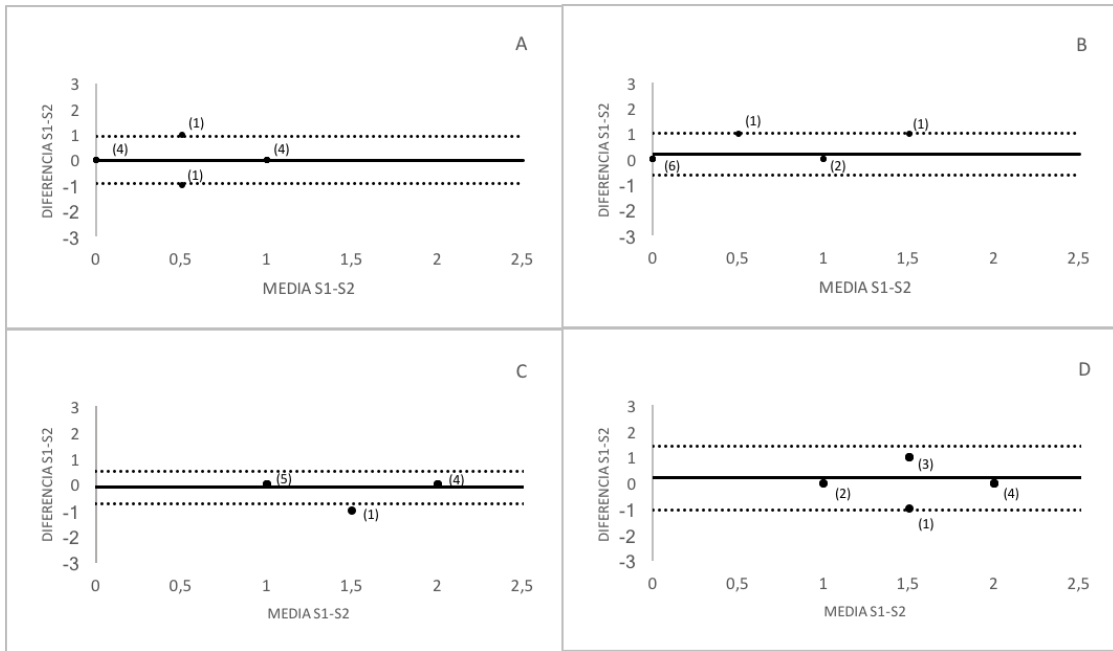
Al analizar la repetibilidad no se encontraron diferencias desde el punto de vista estadístico ( $p$ -valor  $> 0.05$ ) entre las sesiones gradadas por el OI con los dos tipos de meibografos empleados, en ambos grupos de estudio.

Para el grupo control, el coeficiente de repetibilidad (CoR) fue de 0,60 y el tamaño del efecto (ES) fue 0 para el K5M, y para el meibografo de luz visible el CoR fue de 0,81 y el ES de -0,28. Para el grupo con patología, el CoR fue de 0,81 y el ES fue 0,19 para el K5M, y para el meibografo de luz visible el CoR fue de 0,22 y el ES de -0,41.

Los CoR para ambos dispositivos en los dos grupos de estudio fueron positivos y superiores a 0,6, lo que indica una relación directa entre las mediciones de la S1 y S2. No obstante, hubo una discrepancia en el caso de las mediciones con el meibografo de luz visible, en el grupo con patología, donde el CoR descendió a 0,22.

Estos resultados indican que las medidas con el K5M fueron más consistentes que las del meibografo de luz visible, probablemente debido al algoritmo de mejora del contraste que tiene el K5M, que hace que se visualice mejor el espacio entre glándulas lo que facilita al observador la evaluación.

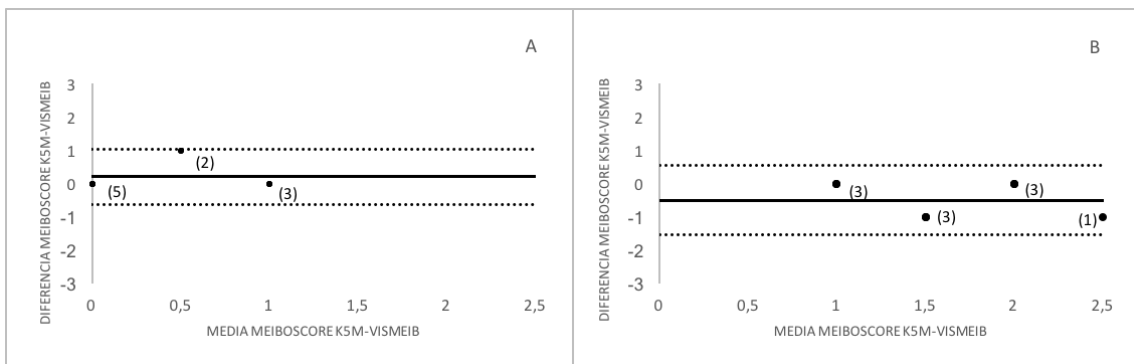
La Figura 14 que se muestra a continuación representa los gráficos de Bland- Altman para el análisis de la repetibilidad para el grupo control y el grupo de patología para los dos instrumentos del estudio.



**Figura 14: análisis de repetibilidad, gráficos de Bland-Altman. Control K5M (A), Control VisMeib (B), Patología K5M(C), Patología VisMeib (D). Los números entre paréntesis representan la cantidad de casos/imágenes que coinciden en un mismo punto. (Las líneas horizontales superior e inferior representan el 95 % del intervalo de confianza).**

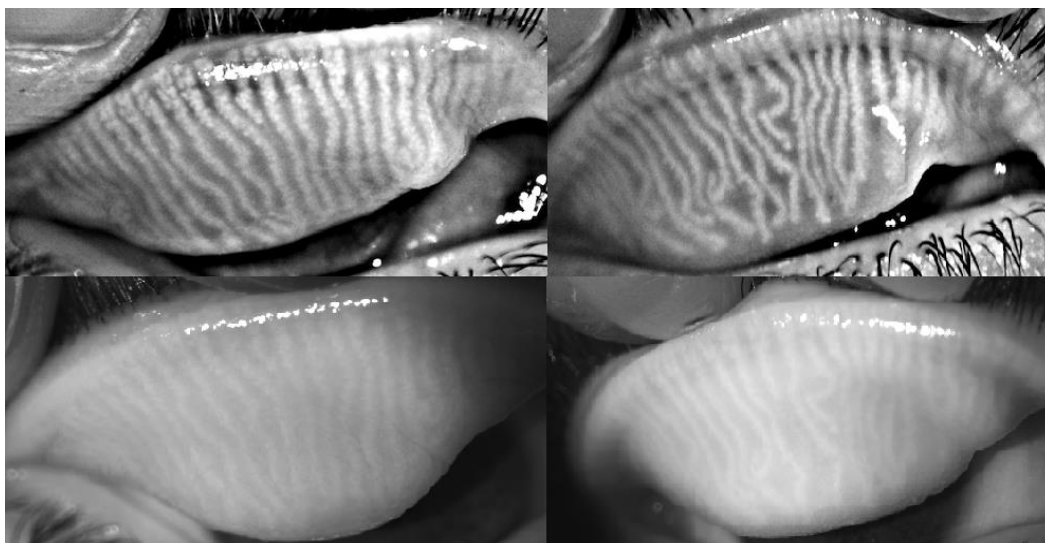
**- Comparación entre meibógrafos**

Para establecer la comparación entre los meibografos se utilizaron los valores de meiboscores gradados en la S1 por el OI y se comprobó que no existían diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $>0.05$ ) para ambos grupos de estudio. La Figura 15 muestra los gráficos de Bland Altman para la comparación entre meibógrafos.



**Figura 15: gráficos de Bland-Altman para la correlación entre K5M-VisMeib. Gradación realizada por el observador I en la sesión 1. (A) Grupo control, (B) Grupo patología. Los números entre paréntesis representan la cantidad de casos que coinciden en un mismo punto**

A continuación, se muestra en la Figura 16, las imágenes de las GM capturadas con los dos instrumentos. Aquí se ilustra una comparación entre los dos instrumentos analizados en el estudio.



**Figura 16: imágenes de las GM con dos meibógrafos, en la parte inferior de la figura las imágenes capturadas con el VisMeib y en la parte superior con el K5M**

### **3.5.6 Conclusiones**

El estudio comparó dos dispositivos para capturar imágenes de las glándulas de Meibomio en poblaciones con y sin patología de las GM, encontrando que ambos permitieron evaluar la pérdida glandular de manera efectiva. Sin embargo, el K5M mostró un mejor contraste, lo que llevó a una tendencia de asignación de meiboscores más bajos al VisMeib en sujetos sanos, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre dispositivos.

En cuanto a la variabilidad intraobservador, los observadores mostraron consistencia en sus evaluaciones, independientemente del dispositivo utilizado. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la variabilidad interobservador al utilizar el K5M, especialmente en el grupo control y en la primera sesión del grupo con patología. Esto sugiere que la escala de naturaleza discreta de gradación puede influir en la consistencia de las evaluaciones.

El análisis de repetibilidad mostró que ambos dispositivos presentaron coeficientes de repetibilidad positivos, siendo el K5M el que mostró una mayor consistencia en las mediciones. Sin embargo, el VisMeib mostró menor repetibilidad en el grupo con patología, lo que sugiere que el K5M podría ser más confiable en estas evaluaciones.

En cuanto a la calidad visual, las imágenes obtenidas con ambos dispositivos fueron comparables. No obstante, las imágenes del VisMeib presentaron un contraste más natural, lo que podría optimizarse con un filtro de contraste, aunque se debe tener cuidado con las posibles alteraciones que puedan surgir en la morfología glandular al optimizar el contraste.

En conclusión, aunque el K5M sigue siendo el dispositivo más consistente y preciso, el VisMeib utilizando luz visible con un filtro de 610 nm demuestra ser una opción viable para analizar las glándulas de Meibomio.

### **3.6 CONCLUSIONES GENERALES DE LOS ESTUDIOS DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO**

Los estudios presentados han sido fundamentales para el desarrollo de la tesis, ya que han permitido explorar diversas metodologías para evaluar el estado de las GM. Estos han permitido avanzar en el desarrollo del uso del contraste glandular como una herramienta diagnóstica, proporcionando una nueva perspectiva en la evaluación de la salud de las glándulas de Meibomio. La comparación entre diferentes algoritmos de procesamiento de imágenes ha demostrado que el método basado en la ecuación de Michelson es más sensible para detectar diferencias entre sujetos sanos y con patología, reforzando su utilidad clínica. Asimismo, la exploración del uso de luz visible como alternativa a la luz infrarroja ha permitido el desarrollo del dispositivo experimental VisMeib, el cual ha mostrado resultados prometedores en la obtención de imágenes meibográficas con un nivel de contraste comparable al del estándar comercial Oculus Keratograph 5M™. Estos hallazgos abren nuevas posibilidades para la optimización de las técnicas de diagnóstico. La combinación de meibografía con luz visible y algoritmos avanzados de procesamiento de imágenes representa una propuesta alternativa que podría facilitar la detección temprana y el seguimiento de patologías relacionadas con las GM, mejorando así la precisión diagnóstica y el acceso a estas tecnologías en entornos clínicos.

## ***CAPÍTULO 4: EVALUACIÓN DE UN INSTRUMENTO MÓVIL PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO***

### **4.1. INTRODUCCIÓN**

Las GM desempeñan un papel fundamental en la salud ocular y su disfunción es una de las principales causas del ojo seco evaporativo, afectando la calidad de vida de los pacientes y a su salud visual. Dado su papel crítico, la evaluación de estas glándulas es clave en el diagnóstico y tratamiento de patologías asociadas. Entre las técnicas disponibles para el análisis de las GM, la meibografía infrarroja se ha consolidado como el método más preciso, permitiendo una visualización detallada de su morfología y la identificación de patrones de atrofia o pérdida glandular. Dispositivos como el Oculus Keratograph 5M™ son considerados el “Gold Standar” en la meibografía clínica, proporcionando imágenes de alta calidad para el diagnóstico y seguimiento de la DGM. No obstante, el alto coste y la necesidad de equipos especializados limitan su accesibilidad en entornos clínicos más generales, dificultando su implementación en la atención primaria o regiones con recursos limitados.

En la actualidad ya hay estudios han demostrado que ciertas longitudes de onda dentro del espectro visible pueden ofrecer un contraste adecuado para la visualización de las GM,<sup>72</sup> sin necesidad de luz infrarroja. En este contexto, surge la necesidad de explorar alternativas más accesibles a la meibografía IR tradicional.

Un estudio reciente ha propuesto un dispositivo portátil que integra tecnología de aprendizaje profundo (DL) para la detección de irregularidades en las GM. Este dispositivo, diseñado para uso de teléfonos móviles inteligentes, incorpora paneles LED (light Emitting Diode) infrarrojos y una cámara USB.<sup>100</sup> Otro estudio ha evaluado un método simplificado de meibografía sin contacto, empleando una cámara digital con un filtro IR, este método destacó por su accesibilidad y su facilidad de uso.<sup>101</sup>

Por otro lado, Anissa *et al.*<sup>102</sup> evaluaron la efectividad de la meibografía con filtro rojo mediante un smartphone, comparándola con la técnica convencional de infrarrojos. Los resultados sugieren que, aunque la meibografía con filtro rojo no alcanza la precisión del método infrarrojo, representa una opción prometedora, especialmente en entornos donde el acceso a equipos avanzados es limitado.

En este capítulo, se presenta un nuevo enfoque para la captura de meibografías mediante un dispositivo acoplado a la cámara del teléfono móvil, que emplea iluminación LED,

una lente macro y un filtro rojo, evitando el uso de luz IR. Posteriormente estas imágenes serán procesadas con un algoritmo desarrollado en Matlab<sup>58</sup> para mejorar su contraste. El objetivo principal de este capítulo consiste en comparar la efectividad de este nuevo método con el “Gold estándar” en meibografía representado por el K5M<sup>TM</sup>, evaluando su aplicabilidad y precisión en la detección de alteraciones de estas glándulas.

Para ello se analizará la fiabilidad interobservador e intraobservador, así como la correlación entre las imágenes obtenidas mediante esta técnica y las de la meibografía infrarroja convencional. Un dispositivo portátil que no dependa de luz IR permitiría ampliar el acceso a la meibografía, facilitando su uso en clínicas, consultas de atención primaria e incluso en entornos de telemedicina.

## **4.2 METODOLOGÍA**

En este apartado de la tesis se llevó a cabo un estudio prospectivo en el que participaron 14 sujetos y se capturaron las imágenes de los párpados superiores de ambos ojos utilizando dos dispositivos. A los participantes se les dividió en dos grupos de estudio: un grupo control y otro con alteración de las GM. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España, con el código C.P. EO4/DPI2016-75272-R- C.I. 16/550-E, y todos los procedimientos realizados cumplieron con los principios de la Declaración de Helsinki.

Los criterios de inclusión para el grupo control fueron: ser mayor de 18 años, no padecer ninguna enfermedad sistémica que afectara la salud ocular, no tener antecedentes de traumatismo, cirugía o patología ocular, no ser usuario de lentes de contacto y obtener una puntuación en el test de OSDI inferior a 15 puntos.

Por otro lado, los criterios de inclusión para el grupo con alteración de las GM fueron: ser mayor de 18 años, obtener una puntuación OSDI igual o superior a 15 puntos y contar con un diagnóstico confirmado de blefaritis, DGM o ser usuario de lentes de contacto por al menos 2 años presentando un meiboscore de grado 1 en la escala de Pult *et al*<sup>55</sup>. El diagnóstico se basó en la evaluación de la sintomatología ocular, la observación de las estructuras palpebrales y anexos (irregularidad y vascularización palpebral, pestañas, conjuntiva tarsal), así como la realización de meibografías y la obtención de los meiboscores.

El estudio se estructuró en dos visitas, durante las cuales se llevaron a cabo una batería de pruebas clínicas y test de sintomatología para evaluar la integridad de la superficie

ocular, el estado de las GM y las estructuras adyacentes. Las pruebas realizadas se detallan en la tabla 5.

Visita 1	Visita 2
Información de las características del estudio y firma del consentimiento informado. Valoración oftalmológica	Meibografía de los párpados superiores con el <b>meibógrafo portátil</b> .
Test de sintomatología OSDI <sup>26</sup> y VAS <sup>27</sup>	
Medidas clínicas <ul style="list-style-type: none"> <li>• Agudeza visual (ETDRS a 4 m) <sup>86</sup></li> <li>• Menisco lagrimal (K5M) <sup>7</sup></li> <li>• Examen de la superficie ocular y anexos con lámpara de hendidura <sup>22</sup> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tinciones corneales</li> <li>- Tinciones conjuntivales</li> <li>- Irregularidad palpebral</li> <li>- TBUT</li> <li>- Vascularización palpebral (telangiectasias)</li> <li>- Exploración de las GM                             <ul style="list-style-type: none"> <li>Taponamientos</li> <li>Calidad del meibum</li> <li>Expresión de meibum</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• Meibografía de párpados superiores con K5M</li> </ul>	
Las escalas de gradación utilizadas en cada prueba se encuentran descritas en el Anexo A.4.	

**Tabla 5: Pruebas clínicas realizadas a los participantes en cada una de las visitas en las que consistió el estudio.**

Todos los participantes fueron informados de la naturaleza del estudio y firmaron el consentimiento informado. En la primera visita se realizaron las pruebas de sintomatología, pruebas clínicas y se obtuvieron las meibografías con el primer instrumento de medida, el Oculus Keratograph 5M <sup>TM</sup>. En la segunda visita, se tomaron las imágenes con el meibógrafo portátil, todas las medidas fueron realizadas por la misma persona.

Para la gradación de las meibografías obtenidas con ambos dispositivos, participaron tres expertos en el área, quienes gradaron las imágenes siguiendo la escala de Pult *et al* <sup>55</sup> en dos sesiones diferentes (S1y S2) separadas por varios días entre sesión y sesión. Esto permitió reducir el sesgo intraevaluador.

- ***Dispositivos empleados en el estudio***

El primer dispositivo para la captura de las meibografías fue el Oculus Keratograph 5M<sup>TM</sup>, este dispositivo de no contacto, emplea luz infrarroja cuasi monocromática con una longitud de onda centrada en los 840 nm e incorpora una cámara infrarroja para la

captura de las imágenes de las glándulas.<sup>22</sup> El K5M genera imágenes con un contraste adicional aplicado por el propio software del instrumento, lo cual incrementa la visibilidad de las glándulas con respecto a los espacios interglandulares.

El segundo dispositivo, está compuesto por una combinación de iluminación LED, una lente macro y un filtro óptico especializado. El montaje incluye los siguientes componentes:

- **Filtro rojo Hoya R1 Pro (RED):** Este filtro logra una transmisión de luz promedio superior al 97% lo que garantiza imágenes con alto contraste en la visualización de las glándulas de Meibomio, optimizando la captura de estructuras específicas.<sup>103</sup>
- **Lente macro:** Facilita el aumento necesario para la observación detallada de la morfología glandular.
- **Base con sistema de iluminación LED:** Proporciona una fuente de luz uniforme, esencial para resaltar la estructura de las glándulas sin generar sombras o reflejos no deseados.
- **Montura adaptada a un dispositivo móvil:** Permite la captura de imágenes con un teléfono móvil, asegurando facilidad de uso y portabilidad. El procedimiento consiste en acoplar el sistema al dispositivo móvil, alineando la óptica con la cámara del teléfono. La iluminación LED se activa para optimizar la observación, mientras que el filtro rojo mejora el contraste de las glándulas de Meibomio. El modelo de teléfono móvil empleado en este estudio es un Google Pixel 6 y la aplicación Adobe Lightroom (<https://lightroom.adobe.com/?locale=es-ES>) para tomar las imágenes de las glándulas en modo “raw”, esto es sin efectos añadidos vía software.

A continuación, se muestra una fotografía del sistema.



**Figura 17: sistema experimental para la captura de las meibografías**

- *Procesado de las imágenes capturadas con el móvil:*

Las imágenes de las glándulas de ambos ojos de los pacientes fueron capturadas con el K5M y con el dispositivo móvil. Para la mejora del contraste de las meibografías del último dispositivo mencionado, se procesaron las imágenes.

A continuación, mostramos el procesado de una imagen de glándulas de Meibomio capturadas con un teléfono móvil equipado con un objetivo macro externo y un filtro rojo. Este procesado consta de las siguientes etapas:

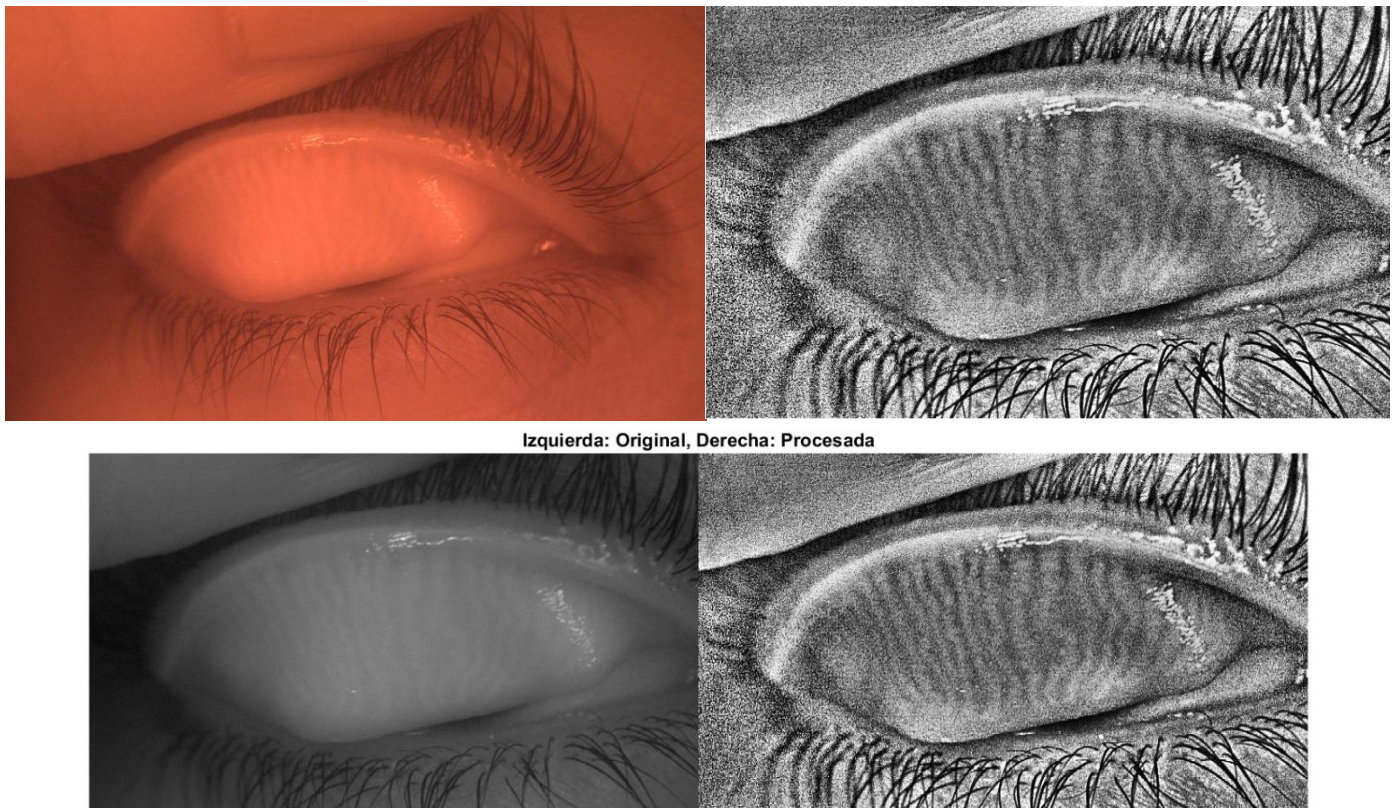
**Carga de la imagen original:** Para tener la menor pérdida de calidad posible, las imágenes se almacenan en un formato “raw” (en el caso de móviles con SO Android, con extensión 'dnp'). Para cargar dichas imágenes raw usamos la instrucción [raw2rgb](#) que permite cargar directamente la imagen como una matriz RGB.

**Filtrado:** Una vez cargada la imagen, esta se recorta para procesar solo el área de las glándulas de Meibomio y tras selecciona el canal R, se convierte a doble precisión y se usa la función [RetinexMS](#) para filtrarla. La función RetinexMS aplica dos filtros de modo consecutivo. El primero es el filtro Retinex Multiescala <sup>104,105</sup> que consiste en aplicar la siguiente operación al logaritmo de la imagen original:

$$LI_f = \sum_{j=1}^3 w_j (LI - LI * h(\sigma_j))$$

Siendo  $LI_f$  el logaritmo de la imagen filtrada,  $LI$  el logaritmo de la imagen original,  $w_j$   $h(\sigma_j)$  el 'kernel' de convolución de un filtro Gaussiano cuya varianza es  $\sigma_j$ . Por su parte,  $w_j$  son los pesos del filtro y  $*$  es la operación de convolución. Una vez calculado el logaritmo de la imagen filtrada, esta se obtiene mediante el cálculo de la exponencial, de modo que  $I_f = \exp(LI_f)$ . Tras aplicar el filtro Retinex multiescala, la imagen se vuelve a filtrar con un filtro de ecualización adaptativa de histograma con un tamaño de vecindario de 8x8 y con la opción de ClipLimit de 0.3 para obtener el máximo contraste posible.

**Presentación gráfica y guardado:** El último paso es la presentación gráfica de los resultados y el guardado de la imagen filtrada como un archivo png con el mismo nombre de la imagen original añadiendo 'Proc' al nombre para distinguirlo mejor del fichero de la imagen original.



**Figura 18:** procesado de una fotografía capturada con el dispositivo móvil

### 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar el tamaño de la muestra, se utilizó la calculadora Granmo v.7.12 (<https://www.datarus.eu/aplicaciones/granmo/>), basándose en los datos obtenidos en el estudio donde se compara el VisMeib con el K5M. Se empleó un riesgo alfa de 0,05, riesgo beta de 0,20 y se estableció una diferencia mínima detectable entre grupos de 0.6 puntos. Como resultado, se obtuvo un tamaño muestral de 7 participantes para cada grupo de estudio.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando Microsoft Excel v.15.30 y SPSS v.22.0. Para describir los signos clínicos, se aplicaron estadísticas descriptivas, y la prueba W de Shapiro-Wilk se empleó para evaluar la normalidad de la distribución de los datos.

Para comparar los signos clínicos entre el grupo control y el grupo con patología, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes. Para determinar la repetibilidad intraobservador entre las dos sesiones (S1y S2), se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas y el coeficiente de correlación intraclass (CCI)

Para analizar la concordancia entre los evaluadores, se calculó el CCI entre ellos y se realizó la prueba de Friedman en ambas sesiones. Para comparar las mediciones obtenidas con los dos dispositivos, se calcularon la correlación de Spearman y los gráficos de Bland-Altman.<sup>94</sup>

Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo, con intervalos de confianza del 95%

### 4.4 RESULTADOS

El estudio incluyó 14 participantes con edad media y desviación estándar en el grupo control de  $37,6 \pm 13,9$  y de  $40,4 \pm 14,7$  para el grupo con alteración de las GM.

#### 4.4.1 Síntomas y signos clínicos:

En relación con los síntomas evaluados se observaron diferencias estadísticamente significativas en las pruebas de sintomatología OSDI ( $p$ -valor  $<0,05$ ) y VAS ( $p$ -valor  $<0,05$ ) para sequedad y sensación de cuerpo extraño entre los grupos de estudio, siendo los síntomas de ojo seco más pronunciados en el grupo con alteración de las GM.

En cuanto a los signos también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para el TBUT ( $p$ -valor  $<0,05$ ) y para las tinciones corneales ( $p$ -valor  $<0,05$ ), en los demás no hallamos diferencias estadísticamente significativas, pero desde

el punto de vista clínico, los signos son más pronunciados en sujetos con alteración de las GM. A continuación, se muestra una tabla con las diferencias entre sujetos en las pruebas clínicas.

<b>PRUEBAS CLÍNICAS</b>			
	<i>Control (n=7) media ± SD</i>	<i>Alteración GM (n=7) media ± SD</i>	<i>p- valor</i>
<b>OSDI</b>	6.3 ± 4.3	18.7 ± 4.6	<b>&lt;0.00*</b>
<b>VAS (0-100)</b>			
<b>Dolor</b>	4.14±7.7	9.4±24.5	>0.05
<b>Sequedad</b>	19.0±29.1	52.4±20	<b>&lt;0.00*</b>
<b>Irritación</b>	14.7±23.5	23.4±30.5	>0.05
<b>Ardor</b>	12.1±25.3	19.±27.1	>0.05
<b>Picor</b>	18.3±24.2	26.5±24.3	>0.05
<b>Fotofobia</b>	10.6±16.0	16.7±25.4	>0.05
<b>Sens. Cuerpo extraño</b>	11.6±26.1	24.8±28.6	<b>&lt;0.05*</b>
<b>AV</b>	-0.0±0.1	0.0±0.1	>0.05
<b>Menisco</b>	0.2±0.1	0.3±0.1	>0.05
<b>TBUT</b>	7.3 ± 2.1	3.7 ± 1.7	<b>&lt;0.05 *</b>
<b>Tinciones corneales (0-15)</b>	0.4 ± 0.7	0.6 ± 0.7	<b>&lt;0.05*</b>
<b>Tinciones conjuntivales (0-18)</b>	0.4 ± 0.2	0.8 ± 0.8	>0.05
<b>Irregularidad palpebral (0-2)</b>	1.3 ± 0.6	1.2 ± 0.3	>0.05
<b>Telangiectasias (0-2)</b>	1.4 ± 0.3	1.5± 0.6	>0.05
<b>Obstrucción (0-2)</b>	0.1± 0.6	0.3 ± 0.5	>0.05
<b>Calidad del meibum (0-4)</b>	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2	>0.05
<b>Expresión de las GM (0-3)</b>	0.2 ± 0.4	0.6 ± 1.0	>0.05

**Tabla 6: resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio**

#### **4.4.2 Resultados del análisis de las imágenes**

En relación con el análisis de las imágenes, se evaluó la consistencia intraobservador, la concordancia interobservador y la comparabilidad entre los dos instrumentos para la obtención de meibografías (K5M y dispositivo móvil) en dos grupos de estudio: sujetos control y sujetos con patología de las glándulas de Meibomio.

- ***Evaluación de la repetibilidad intraobservador***

Los valores de significancia de Wilcoxon fueron mayores a 0.05 para todos los observadores y ambos dispositivos, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las sesiones S1 y S2. Esto sugiere que cada evaluador es consistente en sus mediciones a lo largo del tiempo.

El CCI mostró una alta fiabilidad en el grupo de patología tanto para el K5M (CCI promedio entre 0.933 y 0.937) como para el dispositivo móvil (CCI promedio entre 0.926 y 0.936). En el grupo control, la fiabilidad fue variable: el K5M presentó fiabilidad moderada a buena (CCI promedio entre 0.717 y 0.857), mientras que el dispositivo móvil mostró fiabilidad baja a aceptable (CCI promedio entre 0.610 y 0.769).

- ***Evaluación de la concordancia interobservador***

Para evaluar la concordancia interobservador, se calculó el CCI entre ellos y se realizó la prueba de Friedman en ambas sesiones. En el grupo control, el K5M presentó una excelente fiabilidad interobservador (Alfa de Cronbach de 0.932 y CCI promedio de 0.932), mientras que el dispositivo móvil tuvo una fiabilidad moderada (Alfa de Cronbach de 0.684 y CCI promedio de 0.684).

En el grupo de patología, ambos dispositivos mostraron una fiabilidad interobservador excelente, con valores de Alfa de Cronbach superiores a 0.91 y CCI promedio de 0.919 para el dispositivo móvil y 0.972 para el K5M.

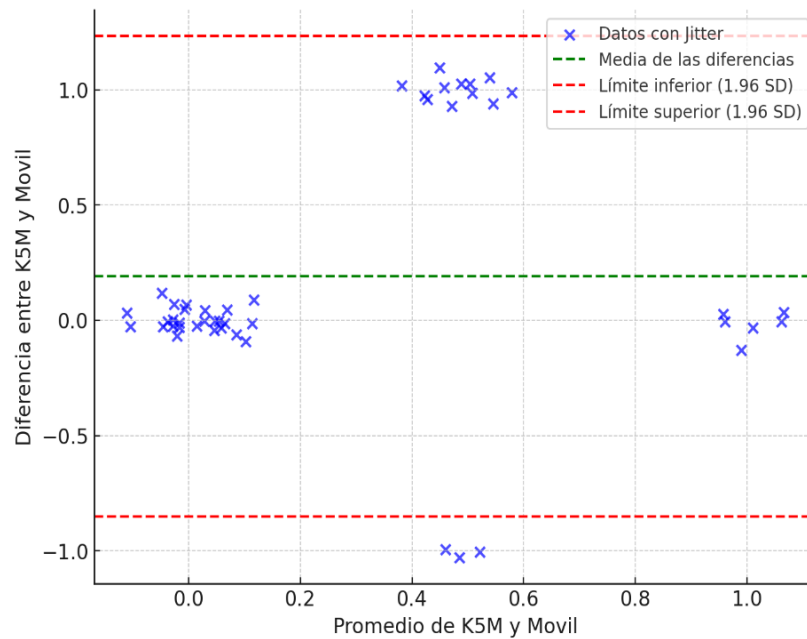
El test de Friedman indicó que no existían diferencias significativas en las gradaciones entre los evaluadores para ninguno de los dispositivos en ambos grupos ( $p > 0.05$ ), lo que sugiere una buena consistencia interobservador.

- ***Comparación entre dispositivos***

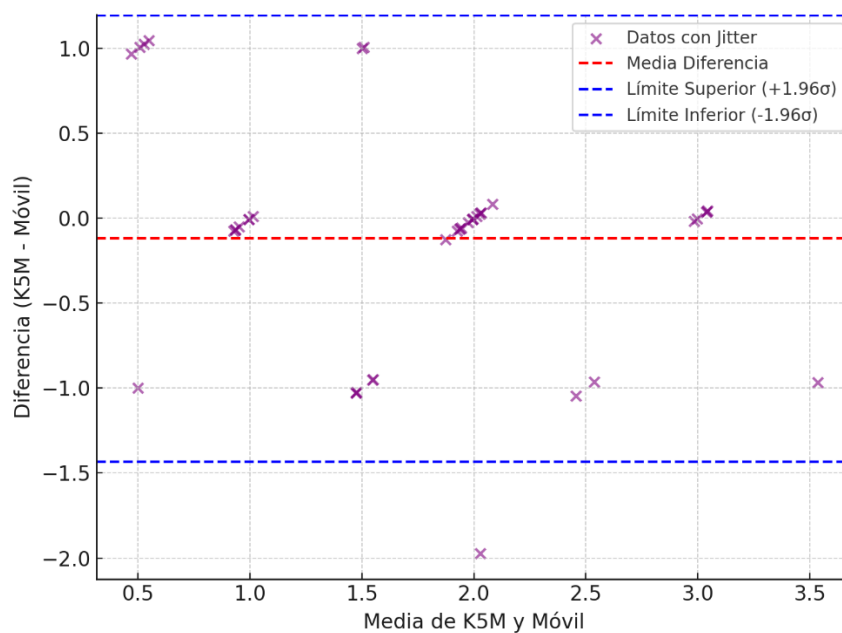
Para comparar las mediciones obtenidas con los dos dispositivos, se calcularon la correlación de Spearman, y la prueba de Bland-Altman.

La correlación entre K5M y el dispositivo móvil fue moderada en ambos grupos (Spearman  $\rho = 0.307$ ,  $p = 0.005$ ). Sin embargo, la correlación fue más débil en el grupo control (Spearman  $\rho = 0.253$ ,  $p = 0.468$ ), lo que sugiere que los dispositivos pueden no ser completamente intercambiables en este grupo.

Los gráficos de Bland-Altman mostraron que la mayoría de las diferencias entre dispositivos estaban dentro de los límites de acuerdo. La media de las diferencias fue de -0.12 en el grupo de patología y 0.233 en el grupo control, sin un sesgo sistemático evidente. A continuación, se muestran los gráficos de Bland-Altman para cada grupo de estudio.



**Figura 19: Gráfica de Bland-Altman para el grupo control**



**Figura 20: Gráfica de Bland-Altman para el grupo con alteración de las GM**

Las diferencias entre K5M y el móvil están centradas en torno a 0, la línea que marca la media de las diferencias está cerca de 0, lo que indica que no hay un sesgo sistemático significativo entre los dos dispositivos en ambos grupos de estudio. Esto significa que, en promedio, ambos dispositivos tienden a dar valores similares.

La mayoría de los puntos están dentro de los límites de acuerdo ( $\pm 1.96$  SD). Esto sugiere que la variabilidad entre ambos dispositivos es aceptable. Los análisis de Bland-Altman indican que las diferencias entre los dispositivos son aceptables, sin sesgos sistemáticos significativos.

#### **4.5 DISCUSIÓN**

En el actual capítulo, se presenta la evaluación de un dispositivo móvil para la captura y visualización de las GM, con el fin de facilitar la accesibilidad y diagnóstico de las disfunciones de estas glándulas, especialmente en entornos clínicos con recursos limitados.

El dispositivo propuesto en este estudio utiliza tecnología accesible: un teléfono móvil con un sistema compuesto por un filtro rojo, una lente macro y un panel LED. Este sistema es capaz de capturar imágenes de las GM sin necesidad de luz infrarroja, a diferencia de métodos tradicionales como el Oculus Keratograph 5M™ (K5M), considerado el "Gold Standard" en meibografía. Este cambio de enfoque no solo reduce los costos, sino que también mejora la portabilidad, lo que permite que el dispositivo sea utilizado en consultas de atención primaria o incluso en telemedicina. A pesar de que la meibografía infrarroja (IR) es altamente precisa para visualizar la morfología de estas glándulas y detectar patrones de atrofia, el alto costo y la complejidad de los equipos dificultan su acceso generalizado. En respuesta, algunos estudios han sugerido alternativas como el uso de filtros de color rojo, los cuales permiten obtener imágenes de calidad sin recurrir a la luz infrarroja, lo que representa una opción más accesible.

El objetivo principal de este estudio ha sido comparar la eficacia de la nueva técnica utilizando un dispositivo móvil con el K5M en cuanto a su capacidad para detectar el grado de pérdida glandular.

Los resultados del estudio clínico mostraron síntomas más pronunciados en el grupo con alteración de las GM esto concuerda con estudios previos.<sup>98</sup> En los signos clínicos, encontramos diferencias estadísticamente significativas en el TBUT y en las tinciones corneales. En el presente estudio, la muestra de pacientes presenta una edad promedio

ligeramente superior en comparación con otros estudios realizados. Dado a que el envejecimiento es un factor que altera la fisiología palpebral y la película lagrimal, es posible que haya influido en la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en alguno de los parámetros evaluados.<sup>106,107</sup>

En cuanto a la gradación con ambos dispositivos, los resultados indican que ambos presentan una buena repetibilidad intraobservador, lo que sugiere que los evaluadores fueron consistentes en sus gradaciones en las dos sesiones. Sin embargo, se observó que la fiabilidad varió según el grupo de estudio y el dispositivo utilizado. En el grupo con patología, ambos dispositivos mostraron una alta confiabilidad, mientras que en el grupo control, el dispositivo móvil presentó menor fiabilidad en comparación con el K5M. Esto podría deberse a que en pacientes sin alteración de las GM las diferencias en el grado de pérdida glandular son más sutiles, lo que podría afectar a la precisión del dispositivo móvil.

En la evaluación de la concordancia interobservador, se encontró que el K5M presentó una mayor consistencia entre evaluadores, especialmente en el grupo control, mientras que el dispositivo móvil mostró una concordancia más limitada. Sin embargo, en el grupo con patología, ambos dispositivos lograron una excelente fiabilidad interobservador.

Al comparar ambos dispositivos, se observó que, aunque la correlación entre ellos fue moderada, la concordancia en el grupo control fue más baja, lo que sugiere que los dispositivos pueden no ser completamente intercambiables en sujetos sin patología. A pesar de esto, el análisis de Bland-Altman mostró que las diferencias entre dispositivos se mantuvieron dentro de los límites de acuerdo, sin un sesgo sistemático evidente.

En conjunto, estos hallazgos refuerzan la utilidad de ambos dispositivos en la evaluación de pacientes con patología, donde se obtuvo una mayor consistencia en las mediciones. No obstante, en sujetos sanos, el uso del dispositivo móvil podría requerir mayor precaución debido a su menor fiabilidad.

En conclusión, el capítulo resalta el potencial de un dispositivo móvil como herramienta accesible y eficaz para la evaluación de las glándulas de Meibomio. Aunque no sustituye completamente al K5M en términos de precisión, ofrece una opción prometedora para el diagnóstico de disfunción de estas glándulas en diversas áreas clínicas, sobre todo en los casos en que la pérdida glandular está por encima de un grado 1 en la escala de Pult. Este enfoque tiene la ventaja de ser económico, portátil y fácil de usar, lo que podría mejorar

el acceso al diagnóstico y tratamiento de enfermedades oculares relacionadas con las GM, especialmente en regiones con recursos limitados.

## ***CAPÍTULO 5: EVALUACIÓN AUTOMÁTICA DE IMÁGENES DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO UTILIZANDO APRENDIZAJE PROFUNDO – DEEP LEARNING-***

### **5.1 INTRODUCCIÓN**

Como ya se ha mencionado, la meibografía es una herramienta útil para diagnosticar alteraciones de las GM que pueden llegar a provocar disfunción de estas glándulas (DGM)<sup>22</sup>. Tradicionalmente, la evaluación de las GM se ha basado en la observación minuciosa realizada por especialistas, quienes emplean escalas de gradación para clasificar las glándulas en función de su pérdida total o parcial, así como las alteraciones morfológicas que puedan mostrar.

Tal y como se describe en el capítulo 1, se han desarrollado diversas escalas de clasificación que asignan un valor numérico según la pérdida glandular. Nichols et al <sup>56</sup> propusieron dos escalas de gradación, evaluando su fiabilidad entre observadores, mientras que Pult y Riede-Pult<sup>55</sup> introdujeron una escala de 5 grados, estos últimos desarrollaron un método computarizado para calcular la pérdida glandular mediante la segmentación manual, la cual demostró ser menos dependiente del criterio del examinador, pero la segmentación manual de cada imagen es un proceso muy laborioso.

No obstante, estos métodos presentan varias limitaciones. En primer lugar, la interpretación de las imágenes de meibografía puede variar entre diferentes observadores, lo que afecta a la reproducibilidad de los diagnósticos. En segundo lugar, este proceso requiere tiempo y experiencia, lo que dificulta su aplicación en estudios clínicos con gran número de imágenes.

En los últimos años han surgido métodos automatizados basados en técnicas de procesamiento de imágenes y aprendizaje automático. Estos enfoques permiten analizar las imágenes de manera objetiva y reproducible, reduciendo la influencia de la variabilidad humana en la clasificación de las glándulas de Meibomio.

En este sentido se han logrado avances significativos como Koh *et al* <sup>59</sup> que utilizaron dos algoritmos para procesar imágenes del párpado permitiendo clasificar los párpados como saludables o no saludables, Celik *et al* <sup>77</sup> presentaron una técnica de segmentación con un filtro de Gabor y un clasificador SVM (Suported Vector Machine), algoritmo de Machine Learning, logrando una precisión del 88% o Koprowski *et al* <sup>78,79</sup> que

propusieron dos enfoques: uno basado en un preprocesamiento para eliminar iluminación desigual y segmentar las glándulas, y otro utilizando pirámides de Riesz para obtener parámetros como el área de las glándulas y del margen del párpado. Finalmente, Liang et al.<sup>108</sup> propusieron un algoritmo basado en c-means difuso mejorado para clasificar las glándulas de Meibomio en cuatro categorías utilizando un conjunto de parámetros a partir del procesamiento de las imágenes de las glándulas.

Centrados en la aplicación de técnicas de Deep Learning “aprendizaje profundo” (DL) y Machine Learning “aprendizaje automático” (ML) en el contexto de la enfermedad del ojo seco y las alteraciones lagrimales, estudios recientes han desarrollado modelos de IA para detectar enfermedades relacionadas con la disfunción de las glándulas de Meibomio.<sup>109,110,111,112,113</sup> Estos estudios utilizan IA para analizar imágenes de meibografía, segmentando automáticamente las glándulas y detectando anomalías morfológicas relacionadas con la DGM, como la longitud, el ancho y la atrofia de las glándulas. Otros estudios emplean algoritmos de ML para predecir los resultados de nuevas terapias para la enfermedad del ojo seco<sup>114</sup> y para clasificar automáticamente la pérdida de glándulas de Meibomio a partir de meibografías.<sup>115</sup> Claramente, las aplicaciones de la IA en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del ojo seco y patologías similares representan un campo de investigación prometedor.

La mayoría de los trabajos previos se han centrado en técnicas de ML y DL para analizar imágenes de las GM. Recientemente, Graham *et al.*<sup>116</sup> introdujeron un enfoque novedoso que combina el análisis de imágenes de meibografía con datos clínicos de síntomas para predecir la disfunción de las GM, la deficiencia acuosa y la blefaritis. Su estudio resalta la importancia de la morfología glandular en la predicción de signos y síntomas de la enfermedad del ojo seco y sugiere que la combinación de datos clínicos con el análisis de la morfología glandular podría mejorar la precisión diagnóstica.

No obstante, los algoritmos de segmentación automático basados en Deep Learning tienen dos problemas principales: 1) necesitan una amplia base de datos de imágenes segmentadas manualmente por uno o varios observadores humanos para poder entrenar correctamente la red neuronal y 2) dependen de un diseño complejo de arquitectura de red neuronal.

Nuestra propuesta consiste en utilizar un número limitado de imágenes y aplicar redes neuronales sencillas diseñadas para la clasificación de imágenes, las cuales se

modificarán ligeramente mediante “transfer learning” para permitir la gradación automática de imágenes de glándulas de Meibomio.

En este contexto, el presente capítulo propone el uso de redes neuronales convolucionales (CNN) para clasificar estas imágenes según la escala de cinco grados de Pult *et al.*<sup>55</sup>, con el objetivo de mejorar la precisión y eficiencia del diagnóstico, minimizando la subjetividad y la variabilidad en la interpretación de los resultados por parte de los clínicos.

## 5.2 METODOLOGÍA

En este capítulo, se llevó a cabo un estudio clínico siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki que fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Independiente del Hospital Clínico San Carlos de Madrid C.P. EO4/DPI2016-75272-R - C.I. 16/550-E. Participaron 59 sujetos, quienes dieron su consentimiento por escrito después de una explicación sobre la naturaleza del estudio.

La muestra se dividió en:

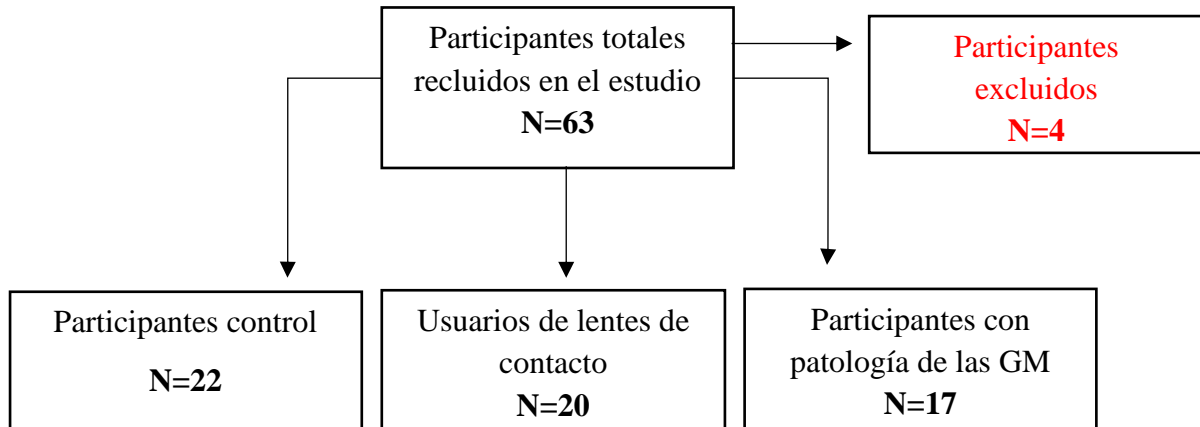
- Grupo control (15 mujeres, 7 hombres, edad media de  $26.7 \pm 7.8$  años).
- Pacientes con DGM (9 mujeres, 8 hombres, edad media de  $39.94 \pm 14.4$  años).
- Usuarios de lentes de contacto (18 mujeres, 2 hombres, edad media de  $24.2 \pm 4.5$  años).

Para el grupo control, se incluyeron personas mayores de 18 años con puntuación OSDI  $< 15$ , no podían ser usuarios de lentes de contacto ni tener un diagnóstico confirmado de alguna alteración de las GM.

Los criterios para el grupo con patología incluyeron a participantes mayores de 18 años, puntuación OSDI  $\geq 15$  y que contasen con un diagnóstico confirmado de disfunción de glándulas de Meibomio (DGM) o blefaritis. El diagnóstico fue realizado por la Dra. Cristina Niño Rueda, oftalmóloga y profesora asociada del departamento de Optometría y Visión de la Facultad de Óptica y Optometría.

Los criterios de inclusión para el grupo de usuarios de lentes de contacto incluyeron, ser mayores de 18 años y ser usuarios de lentes de contacto en los últimos 2 años<sup>37</sup>.

Se excluyeron a los participantes con inflamación ocular, enfermedades que afectaran la salud ocular, medicación sistémica, antecedentes de trauma o cirugía ocular, o que no cumplieran los criterios de inclusión.



**Figura 21: diagrama de flujo de los participantes totales reclutados para el estudio**

El estudio se llevó a cabo en dos sesiones independientes, con un lapso de aproximadamente una semana entre cada visita.

Durante la primera visita, se realizó una entrevista inicial en donde se les hacía una serie de preguntas relevantes para el estudio, incluyendo información sobre el uso de medicación, presencia de trastornos previos y posibles alergias, con el objetivo de identificar factores que pudieran influir en los resultados. Después de esta entrevista y de una valoración oftalmológica, si el sujeto cumplía con los requisitos necesarios para participar en el estudio, se procedía a realizar las siguientes pruebas mostradas en la tabla 7.

***Pruebas clínicas realizadas en la primera visita:***

- **Test de sintomatología OSDI** <sup>26</sup>
- **Test de sintomatología VAS** <sup>27</sup>
- **Medida de la agudeza visual (ETDRS a 4 metros)** <sup>86</sup>
- **Medida de la altura del menisco lagrimal con el K5M (BUSCAR)**
- **Examen con lámpara de hendidura de la superficie ocular y anexos** <sup>22</sup>
  - Irregularidad palpebral
  - Vascularización palpebral (telangiectasias)
  - Estabilidad lagrimal (TBUT)
  - Tinciones corneales y conjuntivales
- **Exploración de las GM:**
  - Taponamientos
  - Evaluación de la calidad del meibum
  - Expresión de las glándulas al ejercer presión
- **Toma de imágenes de las GM con el K5M**

**Tabla 7: pruebas clínicas llevadas a cabo en el estudio**

En la segunda visita, se llevó a cabo la captura de imágenes con el meibógrafo de no contacto con luz blanca descrito anteriormente, con los siguientes filtros 610, 630, 645 y 665 nm. Esta meibografía se realizó en ambos ojos y párpados para cada filtro propuesto.

***Pruebas realizadas en la segunda visita:***

**Imágenes tomadas con el VisMeib en ambos párpados y con los filtros propuestos en el estudio**

- **610 nm**
- **630 nm**
- **645 nm**
- **665 nm**

**Tabla 8: pruebas realizadas en la segunda visita**

## - **Imágenes de las glándulas de Meibomio**

Después de firmar el consentimiento informado y pasar la evaluación inicial, se procedió a realizar las meibografías, para ello se empleó el VisMeib, meibógrafo ya descrito en el capítulo 3, el cual utiliza luz visible y un filtro rojo para iluminar las GM.

Para la obtención de las imágenes de las GM, se atenuaba la iluminación de la sala y se ubicaba al participante en posición sentado, con la barbilla y la frente apoyadas en la mentonera y el frontal, y alineados con el objetivo de la cámara CCD del meibógrafo.

Una vez encendida la fuente de luz y configurado el software de control de la cámara (*iControl*®, NET GmbH, Alemania), se iniciaba la captura de las imágenes. A continuación, se colocaba un filtro de 610 nm frente uno de los mazos flexibles del dispositivo. Mientras una investigadora evertía el párpado inferior del ojo derecho, la otra ajustaba el enfoque de la cámara para garantizar la mejor calidad de imagen. Tras capturar la imagen del párpado inferior, se repetía el procedimiento para el párpado superior. Este proceso se llevó a cabo utilizando filtros de 610, 630, 645 y 665 nm en ambos ojos, manteniendo constante la intensidad de la fuente de luz y seleccionando siempre la misma zona del párpado para cada filtro y cada sesión de medición. Para cada filtro, se tomaron tres imágenes del párpado superior y tres del inferior, para ambos ojos. De esta manera, se obtuvieron un total de 2779 imágenes de las glándulas de Meibomio. Todas las imágenes fueron clasificadas manualmente por dos optometristas entrenadas en esta labor, llegando a un consenso entre ellas en la clasificación de cada imagen y utilizando la escala de Pult<sup>55</sup>, que evalúa el estado de las glándulas en cinco niveles (0-4).

En un estudio previo descrito en el capítulo 3, comparamos los cuatro filtros para la observación de las GM y no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Aunque seleccionamos un filtro basándonos en otros criterios, en el presente estudio decidimos utilizar las imágenes obtenidas con todos los filtros, ya que la ausencia de diferencias estadísticas nos permitió ampliar la muestra y fortalecer la robustez de los resultados.

### **Red neuronal convolucional (CNN)**

Una red neuronal convolucional (CNN o ConvNet) es una arquitectura de red para Deep Learning que aprende directamente a partir de datos. Estas redes son particularmente útiles para identificar patrones en imágenes con el fin de reconocer objetos, clases y

categorías. Además, pueden ser muy eficaces para clasificar datos de audio, señales y series temporales.

Las redes neuronales convolucionales pueden tener decenas o cientos de capas (de ahí el adjetivo “profundo” que se hace referencia al número de capas), y cada una de ellas aprende a detectar diferentes características de una imagen. Esas características se detectan mediante el uso de filtros, en particular el filtro de convolución, junto con la aplicación de una función de activación, generalmente una función ReLU (Rectifier Linear Unit). Tras filtrar la imagen por una capa, la imagen resultante pasa a ser la entrada de la siguiente capa y así sucesivamente. De este modo, cada capa de la red neuronal es un filtro que detecta distintas características de la imagen. Además, si se utilizan funciones de reducción de la dimensionalidad (como el 'max pooling', o submuestreo máximo), ese filtrado se realiza a diferentes resoluciones espaciales. El resultado es la detección de características de imagen que va desde las más simples, tales como brillo y bordes, e ir creciendo en complejidad hasta convertirse en características que definen el objeto de forma singular y que permiten su clasificación.

Una CNN para la clasificación de imágenes es una estructura computacional compuesta por varias capas que operan sucesivamente sobre una imagen de entrada y devuelven un único número (conocido como la etiqueta) que indica la clase predicha. En este trabajo, la CNN se compone de las siguientes capas:

**Capa de entrada:** Representada por la imagen en sí, que puede ser preprocesada mediante normalización y reducción de tamaño. La mayoría de las CNNs para la clasificación de imágenes trabajan con imágenes en color verdadero (RGB)

**Capas de procesamiento:** Es la capa que opera sucesivamente para extraer las características que permiten clasificar la imagen. Incluyen generalmente 3 subcapas: Convolución, funciones de activación ReLU y capas de agrupamiento máximo (MaxPool).

- **Capa de convolución:** Esta capa toma la imagen de entrada y realiza una serie de operaciones matemáticas llamadas convoluciones. Cada convolución utiliza un "filtro" o "kernel" diferente, pero todos los filtros de una misma capa tienen el mismo tamaño. El número de convoluciones que se realizan y el tamaño de estos filtros son determinados por el diseñador de la red neuronal y pueden cambiar entre capas. Durante el entrenamiento de la red, los parámetros que definen estos

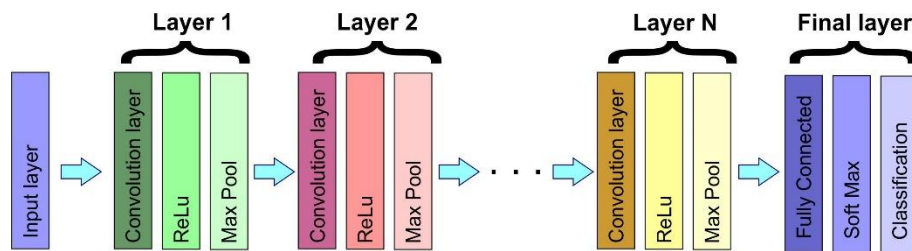
filtros (conocidos como "pesos") pueden cambiar para mejorar la precisión del modelo.

- **Capa ReLu:** Esta capa tiene como función transformar la salida de la capa de convolución para hacerla más útil para el siguiente paso en la red neuronal. Para ello, utiliza una función de activación,  $f(x)$ , que decide qué valores pasan a la siguiente capa. Si el valor de un píxel es mayor o igual a cero, se mantiene tal cual; si es menor que cero, se cambia a cero. Esta operación permite que la red aprenda patrones de forma más eficiente y evite que algunos valores sean negativos, lo que podría dificultar el aprendizaje. Donde  $x$  es la intensidad del píxel.

$$f(x) = \begin{cases} x & \text{si } x \geq 0 \\ 0 & \text{si } x < 0 \end{cases} \quad (3)$$

- **Capa MaxPool:** La capa MaxPool tiene como objetivo reducir el tamaño de las imágenes para que el proceso de análisis sea más rápido y menos costoso computacionalmente. Para hacerlo, divide la imagen en pequeñas secciones o "vecindarios" de píxeles. Luego, de cada vecindario, selecciona el píxel con el valor más alto y lo reemplaza por ese valor, descartando los demás. Esto hace que la imagen se reduzca, pero manteniendo solo la información más relevante. Además, los vecindarios pueden superponerse dependiendo de un parámetro ajustable, lo que influye en cuánto se reduce la imagen. No todas las capas necesitan tener una capa MaxPool; algunas pueden omitir este paso dependiendo de la estructura del modelo.

**Capa de clasificación final:** Es la encargada de clasificar la imagen basándose en la información procesada por las capas anteriores. Primero, la capa totalmente conectada recibe los datos extraídos de la imagen y realiza cálculos matemáticos para generar un conjunto de  $M$  valores, donde  $M$  representa el número de categorías posibles en la clasificación. Después, la capa SoftMax transforma estos valores en probabilidades, asegurando que la suma total sea 1. Cada probabilidad indica qué tan probable es que la imagen pertenezca a una categoría específica. Finalmente, la capa de clasificación selecciona la categoría con la probabilidad más alta como resultado final. De este modo, la CNN no solo clasifica la imagen, sino que también proporciona una estimación de cuán confiable es esa clasificación.



**Figura 22:** Esquema que muestra la estructura de una CNN estándar. Está formada por una capa de entrada, varias capas de procesamiento de la 1 a la N, y una capa final para clasificación de la imagen.

Para que una red neuronal pueda clasificar las imágenes correctamente, primero necesita ser entrenada con un conjunto de imágenes ya clasificadas manualmente, conocido como conjunto de entrenamiento.

Durante este entrenamiento, la CNN analiza estas imágenes y genera sus propias clasificaciones. Luego sus respuestas se comparan con las clasificaciones correctas usando una función de error o pérdida, que mide qué tan lejos está la red de la respuesta esperada.

Para mejorar la precisión, la red ajusta parámetros internos hasta que el error sea lo más bajo posible. Este proceso se repite muchas veces en varias rondas, llamadas iteraciones o lotes. A medida que la red aprende, se monitorea su precisión, el porcentaje de respuestas correctas en el conjunto de entrenamiento y en otro conjunto de imágenes de prueba (conjunto de validación).

Si el entrenamiento es exitoso, la precisión en ambos conjuntos será similar al final del proceso, y con un valor cercano al 100%, lo que indica que la red ha aprendido a clasificar correctamente sin depender demasiado de los ejemplos específicos con los que fue entrenada.

- **Clasificación de imágenes de las glándulas de Meibomio utilizando redes neuronales convolucionales**

Este estudio utilizó redes neuronales para clasificar imágenes de glándulas de Meibomio según su estado en una escala de cinco niveles. Para ello, se usaron tres modelos de inteligencia artificial preentrenados: AlexNet,<sup>117</sup> GoogLeNet<sup>118</sup> y VGG19<sup>119</sup>. Estas redes fueron diseñadas para clasificar imágenes en una amplia variedad de categorías. Sin

embargo, en nuestro caso, solo necesitábamos clasificar las imágenes en cinco categorías, correspondientes a los grados de la escala de Pult<sup>55</sup>.

Para adaptar las redes para la clasificación de las meibografías, se modificó su capa final, reduciendo el número de clases a cinco. Este proceso de ajuste se conoce como "transfer learning" (aprendizaje por transferencia) en el campo de la visión artificial.

Antes de entrenar las redes neuronales, se aplicó una ecualización adaptativa de histograma para mejorar el contraste de las imágenes. Luego, se dividió el conjunto completo de imágenes de las glándulas de Meibomio en dos subconjuntos:

- 70% de las imágenes se usaron para entrenamiento.
- 30% de las imágenes se usaron para validación.

Para evitar sesgos, cada imagen se asignó aleatoriamente a uno de estos dos conjuntos.

Durante el entrenamiento, la red se entrenó en 50 lotes (*batches*). Después de completar cada lote, se clasificó todo el conjunto de validación y se calculó la precisión como el porcentaje de imágenes correctamente clasificadas.

Para hacer el entrenamiento más robusto, implementamos una técnica llamada aumento de datos (*data augmentation*), que consiste en mover y rotar aleatoriamente las imágenes para simular un conjunto de datos más grande sin necesidad de nuevas imágenes. El conjunto de validación no se modificó, por lo que permaneció igual en todas las iteraciones del entrenamiento.

Finalmente, cada red se entrenó cinco veces para evaluar la confiabilidad del proceso. En cada repetición, las imágenes se dividieron nuevamente en conjuntos de entrenamiento y validación de forma aleatoria.

El entrenamiento se realizó en un ordenador con procesador AMD® Ryzen Threadripper 3.4 GHz, 32 GB de memoria RAM y Tarjeta gráfica NVidia® GeForce GTX 1070 de 8 GB. La tarjeta gráfica se utilizó para cálculos en CUDA® (Compute Unified Device Architecture), lo que permitió acelerar el procesamiento de datos.

### **5.3 RESULTADOS**

En este apartado se analizan los resultados, tanto clínicos como de la clasificación de las meibografías con Deep Learning.

### 5.3.1 Resultados de las pruebas clínicas

A continuación, en la tabla 9, se muestran los resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio.

Los resultados evidencian diferencias significativas en sintomatología y signos clínicos entre los grupos evaluados. El test de OSDI fue significativamente mayor en los grupos de patología y usuarios de LC en comparación con los controles ( $p < 0.001$ ). El test VAS reveló un incremento significativo para el dolor, la sequedad, la irritación, el ardor, el picor, la fotofobia y la sensación de cuerpo extraño en los grupos patología y LC ( $p < 0.05$ ). Asimismo, el menisco lagrimal y el TBUT fueron menores en el grupo con patología ( $p = 0.005$  y  $p = 0.04$ , respectivamente), lo que sugiere una menor estabilidad de la película lagrimal en estos pacientes.

Las tinciones en la conjuntiva bulbar fueron significativamente mayores en el grupo con patología ( $p = 0.01$ ), indicando esto un mayor daño en la superficie ocular. Además, la irregularidad del margen palpebral y la calidad del meibum presentaron diferencias significativas entre grupos ( $p = 0.04$  y  $p = 0.002$ , respectivamente), reflejando una alteración en la función de las glándulas de Meibomio, especialmente en el grupo de patología.

Estos hallazgos indican un posible deterioro, significativo en alguno de los mencionados parámetros de la superficie ocular y una mayor sintomatología en los sujetos con patología y en usuarios de lentes de contacto.

<b>PRUEBAS CLÍNICAS</b>				
	<i>Control (n=22)</i>	<i>Patología (n=17)</i>	<i>LC (n=20)</i>	<i>p- valor</i>
	<i>media ± SD</i>	<i>media ± SD</i>	<i>media ± SD</i>	
<b>OSDI</b>	6.7 ± 3.7	28.7 ± 15.1	18 ± 18.7	<b>&lt;0.001*</b>
<b>VAS</b>				
<b>Dolor</b>	1.1±3.5	10.8±14.5	9.8±18.7	<b>0.005*</b>
<b>Sequedad</b>	9.8±11.8	47.7±24.2	36.1±32.5	<b>0.001*</b>
<b>Irritación</b>	2.5±6.5	29.2±16.2	27.8±30.3	<b>0.001*</b>
<b>Ardor</b>	10.3±24,2	22.4±21.6	11.4±19.8	<b>0.006*</b>
<b>Picor</b>	10.5±16.3	29.4±25.9	21.8±26.1	<b>0.046*</b>
<b>Fotofobia</b>	3.7±8.9	34.3±30.1	25±34.9	<b>0.001*</b>
<b>Sens. Cuerpo ext.</b>	5.2±10	24.8±25.1	20.3 ±26.6	<b>0.003*</b>
<b>AV</b>	0.0±0.2	0.0±0.1	-0.0±0.1	>0.05
<b>Menisco</b>	0.3±0.1	0.2±0.0	0.3±0.1	<b>0.005*</b>
<b>TBUT</b>	5.8 ± 2.1	4.8 ± 2.7	7.3 ± 4.8	<b>0.04 *</b>
<b>Tinciones corneales (0-15)</b>	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.3	0.1 ± 0.1	>0.05
<b>Tinciones conjuntivales (0-18)</b>	0.3 ± 0.4	0.6 ± 0.7	0.3 ± 0.5	<b>0.01*</b>
<b>Irregularidad margen palpebral (0-2)</b>	1.6 ± 0.7	1.9 ± 0.2	2 ± 0.0	<b>0.04 *</b>
<b>Telangiectasias (0-2)</b>	1.9 ± 0.3	2 ± .0	2 ± 0.0	>0.05
<b>Obstrucción (0-2)</b>	0.2 ± 0.6	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.5	>0.05
<b>Calidad del meibum (0-4)</b>	0.0 ± 0.2	0.6 ± 1.1	0.0 ± 0.0	<b>0.002*</b>
<b>Expresión de las GM (0-3)</b>	0.5 ± 0.5	0.6 ± 0.7	0.2 ± 0.4	<b>0.017*</b>

**Tabla 9: resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio**

### 5.3.2 Resultados de la clasificación

Los resultados de la clasificación en los tres modelos de inteligencia artificial pre entrenados se muestran en la siguiente tabla.

En ella se muestra la precisión obtenida en la clasificación del conjunto de validación para las redes modificadas en cada una de las cinco pruebas realizadas.

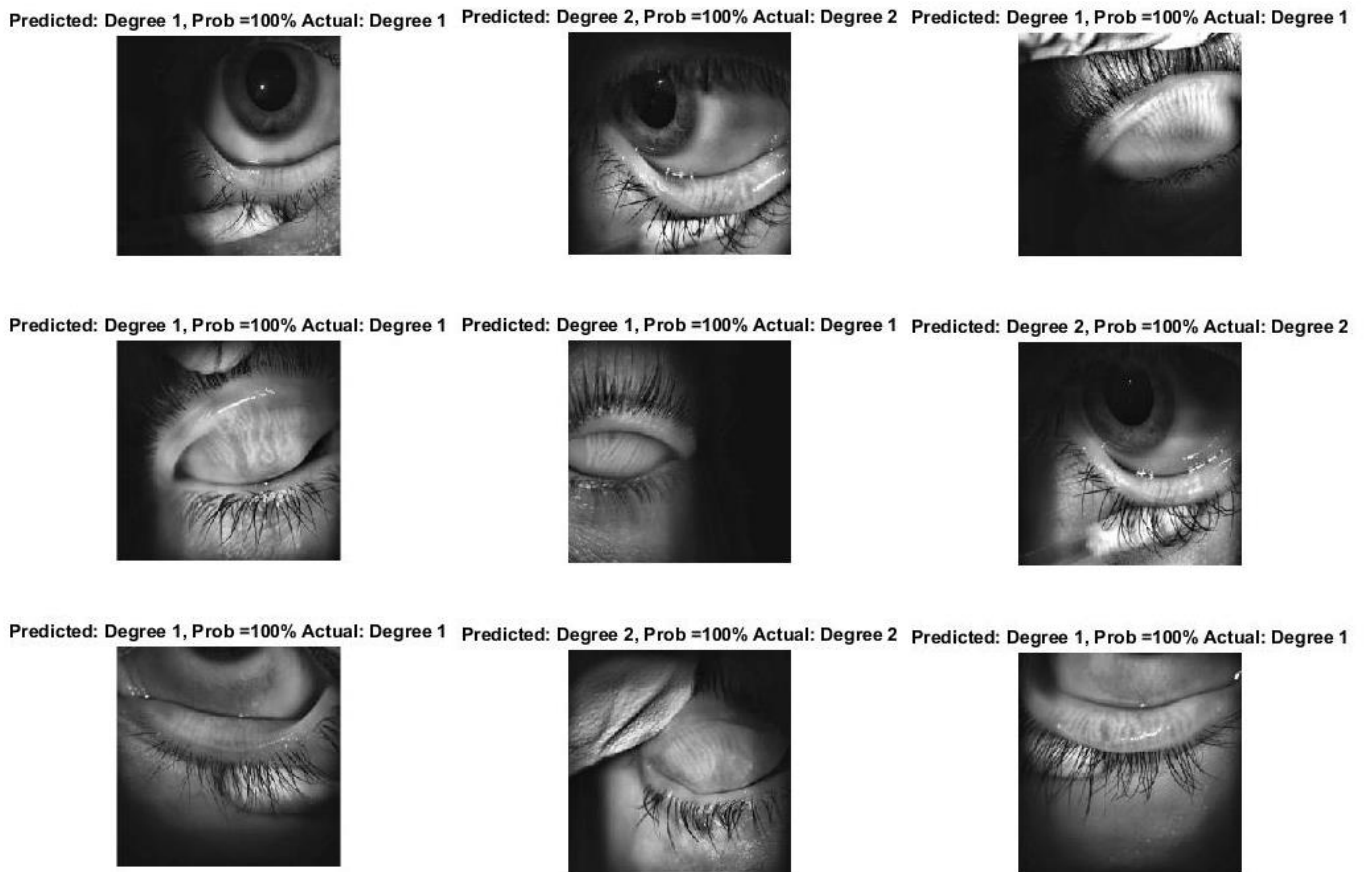
Prueba/Red	AlexNet Modificada	VGG19 Modificada	GoogLeNet Modificada
1	98.9%	99.5%	88.9%
2	99.2%	99.6%	87.3%
3	98.9%	99.5%	85.9%
4	98.7%	99.5%	85.5%
5	99.0%	99.5%	84.5%
Media	98.9%	99.5%	86.4%
Desviación estándar	0.2%	0.1%	1.7%

**Tabla 10: Precisión en la clasificación de tres redes modificadas para la evaluación automática de las glándulas de Meibomio, obtenida en el conjunto de validación en cinco pruebas diferentes. En cada prueba, el conjunto total de imágenes se dividió aleatoriamente en un conjunto de entrenamiento (70% de las imágenes) y un conjunto de validación (30% de las imágenes). También indica la media y desviación estándar de cada red.**

Como se puede observar en la tabla 10, la red que mostró mayor precisión en el conjunto de entrenamiento fue la VGG19 modificada, con un  $99.5\% \pm 0.1\%$ . A ella le siguió la AlexNet modificada ( $98.9\% \pm 0.2\%$ ) y la GoogLeNet modificada ( $86.4\% \pm 1.7\%$ ). Lo que sugiere que VGG19 y AlexNet son las más adecuadas para la clasificación de estas imágenes. Los datos muestran, sin embargo, que la GoogLeNet, podría no ser la mejor opción para este tipo de clasificación. VGG19 y AlexNet no solo tienen una alta precisión, sino que también son redes muy consistentes, ya que los resultados apenas varían entre pruebas.

Los resultados muestran una precisión significativamente superior a la obtenida en la versión original de las CNNs utilizadas,<sup>118</sup> lo que destaca la efectividad del enfoque adoptado.

A continuación, se muestra una secuencia de imágenes de las GM pertenecientes al conjunto de validación.



**Figura 23: muestra aleatoria de 9 imágenes del conjunto de validación clasificadas por la red VGG19. En los títulos de las imágenes se indica el grado predicho en la escala de Pult, la probabilidad de esta predicción y el grado real asignado por un observador humano.**

Cabe destacar que, en las imágenes de la figura, además de mostrar la zona interna del párpado donde se encuentran las GM, se incluyen otros elementos como pestañas, hisopos de algodón o guantes del examinador, lo que podría generar confusión para el algoritmo. Además, la iluminación de las imágenes es irregular.

Pero a pesar de estos inconvenientes, el algoritmo clasificó todas las imágenes correctamente con un 100% de certeza en los casos mostrados en la figura 24.

- *Análisis de la matriz de confusión*

La matriz de confusión es una herramienta fundamental para evaluar el rendimiento de un modelo de clasificación. En este caso, se ha utilizado para analizar la capacidad de la red para la clasificación de las imágenes de meibografía en diferentes grados.

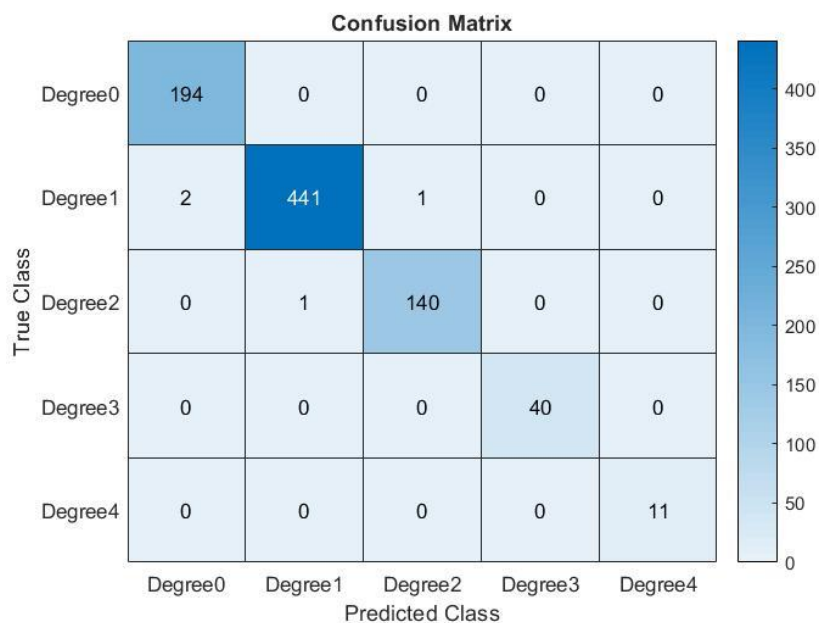
La diagonal principal de la matriz representa los casos en los que la red clasificó correctamente las imágenes, es decir, cuando la categoría predicha coincidió con la real.

Un alto número de valores en esta diagonal indica un buen desempeño del modelo, ya que significa que la mayoría de las imágenes fueron correctamente identificadas dentro de su categoría correspondiente.

Los valores fuera de la diagonal representan los errores cometidos por el clasificador, es decir, los casos en los que la imagen fue asignada a una categoría incorrecta. En la matriz observada, se identificaron los siguientes errores:

- Dos imágenes que en la clasificación manual pertenecían al grado 1, fueron identificadas por la red como grado 0.
- Una imagen que correspondía al grado 1 fue clasificada como grado 2.
- Una imagen de grado 2 fue clasificada como grado 1.

Un aspecto relevante de estos errores es que ocurrieron entre grados consecutivos, lo que indica que la red tiene dificultades para diferenciar categorías que son similares entre sí.



**Figura 24:** matriz de confusión obtenida tras la clasificación del conjunto de validación con la red VGG19.

## 5.4 DISCUSIÓN

En el presente capítulo se demuestra que es factible el uso de redes neuronales convolucionales (CNNs) para evaluar el grado de pérdida glandular en las glándulas de Meibomio con alta precisión. Esta tecnología presenta importantes ventajas clínicas.

Una de las principales ventajas de las redes neuronales convolucionales (CNNs) es que, aunque el proceso de entrenamiento de una CNN es largo (aproximadamente 10 horas) y requiere gran número de imágenes, una vez que han sido entrenadas con un conjunto de imágenes previamente clasificadas, pueden analizar y clasificar nuevas imágenes de manera casi instantánea, sin necesidad de repetir todo el proceso de aprendizaje. Esto permite su integración eficiente en entornos clínicos donde se manejan grandes volúmenes de datos, agilizando la evaluación de pacientes y reduciendo la carga de trabajo de los especialistas.

Además, estas redes tienen la capacidad de ir mejorando con el tiempo, ya que pueden ser reentrenadas o actualizadas a medida que se incorporan nuevos datos. Esto significa que el modelo puede refinar sus predicciones y aumentar su precisión adaptándose a posibles variaciones en las imágenes de meibografía y mejorando su rendimiento.

Los resultados del estudio mostraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de los test OSDI y VAS entre los tres grupos analizados, siendo más elevados en los participantes con patología y en aquellos con lentes de contacto<sup>8</sup>. El menisco lagrimal presentó diferencias significativas, con valores menores en el grupo con patología.<sup>9,120</sup>

El tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT) fue significativamente menor en el grupo con patología, indicando una mayor inestabilidad de la película lagrimal. En cuanto a las tinciones conjuntivales, se observaron valores más elevados en el grupo con patología, reflejando un mayor daño de la superficie ocular. Además, la irregularidad palpebral fue más pronunciada en los grupos de patología y LC. La calidad y expresión del meibum también mostraron diferencias significativas entre los tres grupos, siendo peores en el grupo con patología.<sup>98,99,100</sup>

En este estudio se han utilizado versiones ligeramente modificadas de tres clasificadores de imágenes estándar: AlexNet, VGG19 y GoogLeNet, obteniéndose en los 3 casos una alta precisión. Esto significa que no es necesario diseñar una CNN específica para la clasificación de imágenes de las glándulas de Meibomio ya que es un proceso largo y complejo. Esta misma estrategia también podría aplicarse en el futuro para extraer información adicional de las imágenes, atendiendo a otros parámetros, como medir el tamaño y área de las glándulas, su grosor o incluso su contraste, lo que proporcionaría datos más detallados para el diagnóstico del síndrome de ojo seco.

Además, las CNNs actuales no solo asignan una calificación numérica a cada imagen, sino que también permiten una segmentación avanzada de las GM. Estas técnicas proporcionan información detallada sobre la morfología de las glándulas, facilitando un análisis más preciso de los cambios estructurales en las glándulas de Meibomio.

Aun así, no todo son ventajas, también surgen limitaciones en el método propuesto. La principal es que la red neuronal aprende a clasificar imágenes en función de los observadores humanos, lo que puede introducir sesgos en el modelo. Para mitigar este problema, sería recomendable incluir imágenes clasificadas por múltiples expertos, asegurando una mayor diversidad en las etiquetas de entrenamiento. No obstante, esto podría afectar la precisión del modelo.

En conclusión, se puede decir que, el uso de las CNNs para la gradación automática de las imágenes de las GM representa un avance prometedor en el diagnóstico de patologías relacionadas con estas glándulas. Sin embargo, se requieren más estudios para optimizar su desempeño, reducir sesgos y mejorar su aplicación en la práctica clínica. Con futuras mejoras en la calidad de los datos de entrenamiento y el uso de técnicas avanzadas de análisis de imágenes, esta tecnología podría convertirse en una herramienta para el diagnóstico automatizado de enfermedades oculares.

## ***CAPITULO 6: ESTUDIO DE LOS CONTRASTES A LO LARGO DEL DÍA***

### **6.1 INTRODUCCIÓN**

En el presente capítulo, se presenta un estudio detallado sobre la medida de los contrastes de las glándulas de Meibomio (GM) a lo largo del día, con el objetivo de analizar la variación del contraste diurno para comprender mejor el funcionamiento de estas glándulas. Este enfoque permite avanzar en el conocimiento de la fisiología ocular, particularmente en la relación con las variaciones en la función secretora de las glándulas y su relevancia en el mantenimiento de la integridad de la película lagrimal. La disfunción de las GM se ha reconocido como una de las principales causas del ojo seco evaporativo. Cuando estas glándulas no funcionan adecuadamente, la producción lipídica disminuye y conduce a una evaporación mayor de la película lagrimal, provocando sequedad e irritación ocular.<sup>121</sup>

El interés por estudiar el comportamiento de las GM surge de la necesidad de profundizar en el conocimiento de su función normal y patológica. A pesar de los avances en este campo, existen lagunas en nuestro conocimiento, en particular en la fisiología glandular a lo largo del día. En este sentido, nuestra hipótesis plantea que la medida de la evolución del contraste glandular a lo largo del día puede servir como un indicador de los cambios diarios que experimentan las glándulas de Meibomio.

El presente capítulo abordará en profundidad la medición de los contrastes glandulares a lo largo del día (de 8:00 AM a 20:00 PM), proporcionando datos que pueden ofrecer nuevas perspectivas sobre el funcionamiento de las glándulas de Meibomio y su papel en la salud visual.

### **6.2 METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL ESTUDIO**

Se realizó un estudio de carácter longitudinal, prospectivo y comparativo. En el que participaron un total de 86 sujetos y se llevó a cabo íntegramente en la Facultad de Óptica y Optometría de la Universidad Complutense de Madrid, España. El proyecto fue aprobado por el comité de ética del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, con el identificador EO4/DPI2016-75272-R-C.I. 21/176-E, y todos los procedimientos cumplieron con los principios éticos de la Declaración de Helsinki. Los participantes fueron informados previamente sobre la naturaleza del estudio y firmaron un consentimiento informado.

Los participantes se dividieron en dos grupos de estudio: un grupo control formado por individuos sanos y otro grupo con alteración de las glándulas de Meibomio.

Los criterios de inclusión para el grupo control fueron: tener más de 18 años, no usar lentes de contacto, obtener una puntuación inferior a 15 en el test de OSDI <sup>26</sup>, y no contar con un diagnóstico de alteraciones en las GM.

Para el grupo con alteración de las GM, los criterios de inclusión comprendieron: ser mayor de 18 años, tener una puntuación de OSDI igual o superior a 15, ser usuario de lentes de contacto por al menos 2 años <sup>37</sup> o contar con un diagnóstico confirmado de disfunción de las glándulas de Meibomio (DGM) o blefaritis, emitido por un especialista, en este caso llevado a cabo por la Dra. Cristina Niño Rueda, oftalmóloga de la Clínica Universitaria de Optometría de la Facultad de Óptica y Optometría de la UCM. El procedimiento diagnóstico consistió en la evaluación de los síntomas oculares, junto con la observación detallada de las estructuras palpebrales y anexos, como la irregularidad y vascularización de los párpados, las pestañas y la conjuntiva tarsal. Además, se analizaron las meibografías obtenidas con el K5M y se valoraron los meiboscores obtenidos <sup>7,31</sup>.

Se excluyeron del estudio aquellos participantes que presentaban inflamación ocular, enfermedades que afectaran a la salud ocular, intervenidos de cirugía refractiva, así como aquellos que utilizaban medicación ocular o sistémica, y quienes no cumplieran con los criterios de inclusión específicos para cada grupo. El estudio completo se dividió en dos visitas, en la tabla 11 se muestran las pruebas realizadas en cada una de ellas.

<b>Visita 0</b>
Información al participante de las características del estudio y firma del consentimiento informado
<b>Visita 1</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Valoración oftalmológica</b></li> <li>• <b>Test de sintomatología OSDI</b> <sup>26</sup></li> <li>• <b>Test de sintomatología VAS</b> <sup>27</sup></li> <li>• <b>Medida de la agudeza visual (ETDRS a 4 metros)</b> <sup>86</sup></li> <li>• <b>Medida de la altura del menisco lagrimal con el K5M</b> <sup>7</sup></li> <li>• <b>Examen con lámpara de hendidura de la superficie ocular y anexos</b> <sup>22</sup> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Irregularidad palpebral</li> <li>○ Vascularización palpebral (telangiectasias)</li> <li>○ Estabilidad lagrimal (TBUT)</li> <li>○ Tinciones corneales y conjuntivales</li> </ul> </li> <li>• <b>Exploración de las GM:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Taponamientos</li> <li>○ Evaluación de la calidad del meibum</li> <li>○ Expresión de las glándulas al ejercer presión</li> </ul> </li> <li>• <b>Toma de imágenes de las GM de ambos párpados con el K5M (8AM,10AM, 12PM,14 PM)</b></li> </ul>
<b>Visita 2</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Toma de imágenes de las GM de ambos párpados con el K5M (16PM,18PM,20PM)</b></li> </ul>
<i>Escalas de gradación adjuntas en anexos A.4</i>

**Tabla 11: pruebas clínicas realizadas a los participantes en el estudio**

En una visita anterior, conocida como visita 0, se explicó a los participantes la naturaleza del estudio, y se les solicitó que firmaran el consentimiento informado.

En la visita 1, se llevaron a cabo las pruebas de sintomatología y las mediciones clínicas. Se realizó la meibografía del párpado superior e inferior de ambos ojos utilizando el Keratograph 5M™ desde las ocho de la mañana hasta las dos de la tarde, en intervalo de dos horas, tomándose un total de 4 tandas en esa visita.

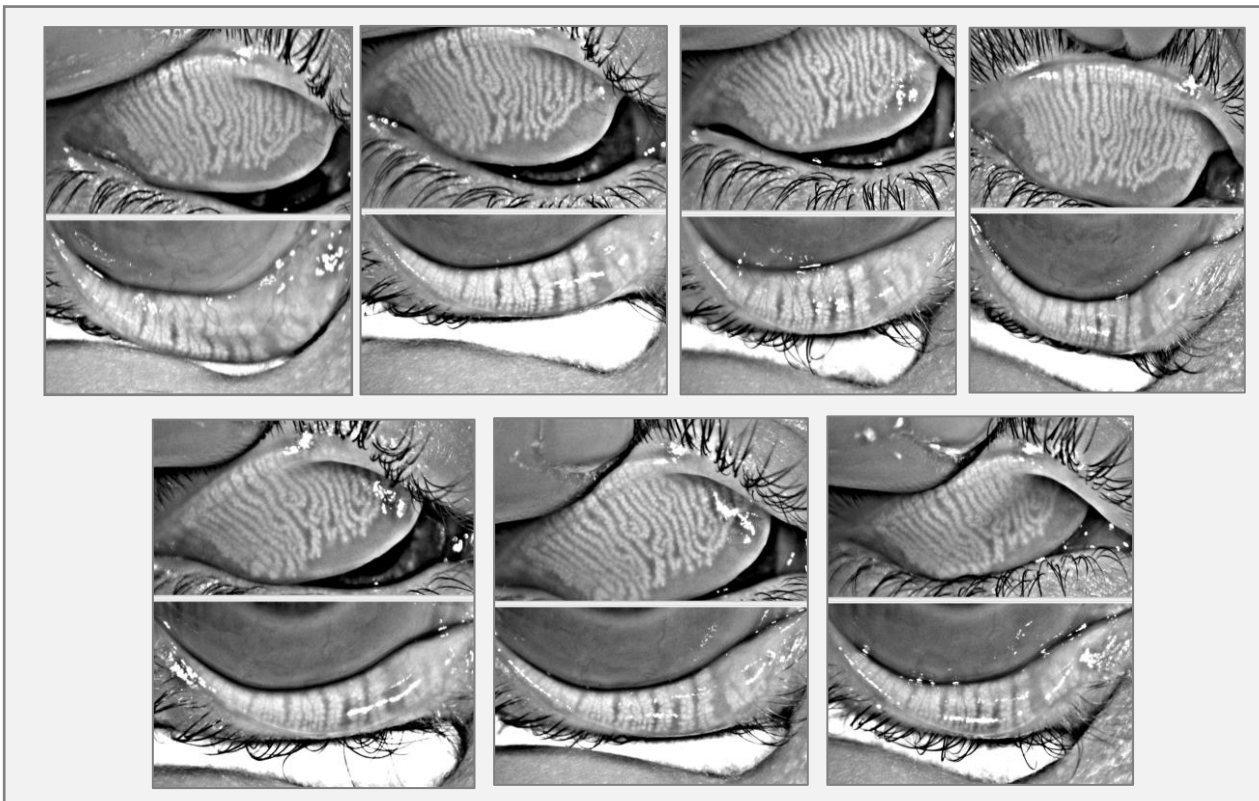
En la visita 2, realizada en un horario de cuatro a ocho de la tarde, se tomaron las meibografías, con el mismo dispositivo, del párpado superior e inferior de ambos ojos de

cada participante cada dos horas, dando lugar a un total de 3 tandas de meibografías en la visita 2.

Las medidas fueron realizadas por las mismas dos investigadoras, y los participantes no estaban enmascarados durante la toma de las medidas clínicas.

La captura de las meibografías se programó en esos intervalos horarios para no forzar a las glándulas y ni causar molestias excesivas al sujeto, además estudios previos han determinado que las GM requieren aproximadamente dos horas para reponerse tras la liberación del meibum <sup>121</sup>. Después de esto, se procesaron las imágenes de las meibografías para obtener el contraste.

A continuación, en la Figura 24 se muestra una secuencia de meibografías del párpado superior e inferior tomadas para un mismo sujeto a lo largo del día.



**Figura 25: secuencia de meibografías tomadas para una misma persona a lo largo del día, del PS y PI.**

**- *Procesado de imágenes***

Se obtuvieron un total de 172 imágenes de meibografía del párpado superior y 172 imágenes del párpado inferior.

Para ver como varia el contraste a lo largo del día se ha seleccionado el CINTER o contraste inter glandular, ya que en capítulos anteriores se ha determinado que este parámetro que mejor define el contraste de las GM y el que mejor precisión tiene a la hora de detectar alteraciones relacionadas con las GM.

Para el cálculo del contraste inter-glándular (CINTER) se seleccionaron las meibografías con el contraste añadido que nos proporciona el K5M y fueron procesadas por un mismo investigador, utilizando un *software* propio programado <sup>87</sup> en Matlab® <sup>58</sup> nombrado en el capítulo 3. Se escogió la zona central de la conjuntiva tarsal y se evaluaron consistentemente las mismas 7-8 glándulas centrales en cada participante.

### **6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de los datos del estudio, se emplearon los programas estadísticos Microsoft Excel v.15.30 y SPSS v.22.0. Para el cálculo del tamaño muestral, se utilizó la calculadora Granmo v.7.12 (<https://www.datarus.eu/aplicaciones/granmo/>), basándonos en los datos obtenidos de un estudio piloto realizado anteriormente con un número inferior de participantes. Los parámetros utilizados fueron un riesgo alfa de 0.05, un riesgo beta de 0.20, y una diferencia mínima esperada entre los grupos (control y alteración) de 1,8 puntos. El cálculo determinó que el tamaño mínimo de muestra por grupo debía ser de 31 sujetos por grupo. La muestra total del estudio fue de 42 sujetos control y 44 con alteración de las GM.

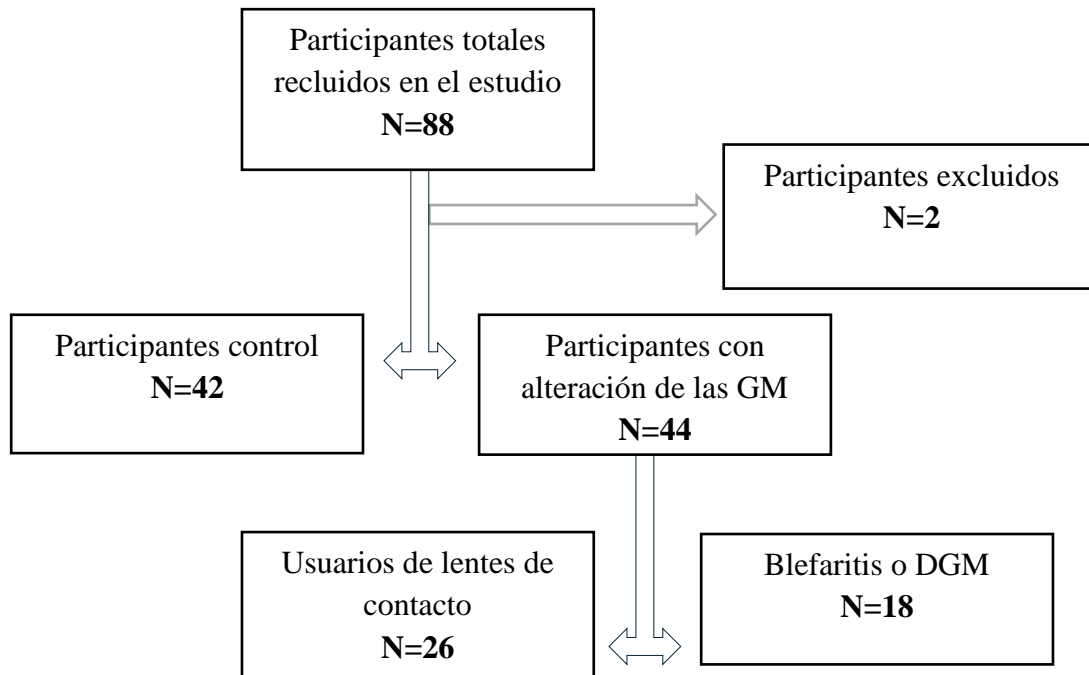
La normalidad de la distribución se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Se aplicó estadística descriptiva para detallar los signos clínicos, y la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes se utilizó para determinar las diferencias en los signos clínicos entre el grupo control y el grupo con alteración de las GM.

Para estudiar como variaba el contraste a lo largo del día, se procesaron las imágenes de ambos ojos y ambos párpados de cada participante, se normalizaron los datos del contraste según el procedimiento de z-score o estandarización, y se realizó un análisis de regresión lineal y ANOVA <sup>90</sup> de medidas repetidas en cada grupo de estudio. Se consideró un *p*-valor de 0,05 como estadísticamente significativo.

### **6.4 RESULTADOS**

Se analizaron los datos de 86 participantes incluidos en el estudio (ver Figura 25), divididos en dos grupos, un grupo control formado por 42 sujetos (6 hombres y 36 mujeres) con media de edad  $23,49 \pm 0,94$  y un grupo con alteración de las GM de 44

sujetos (6 hombres y 38 mujeres) con media de edad  $27,2 \pm 1,53$ , este último grupo estaba conformado por usuarios de lentes de contacto y por sujetos con disfunción de las GM o blefaritis. Se excluyeron a 2 participantes del estudio por no cumplir los criterios de inclusión mencionados. Los datos de los ojos derechos e izquierdos se emplearon indistintamente en el análisis de los contrastes ya que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ojos ( $p > 0.05$ ).<sup>122</sup>



**Figura 26: diagrama de flujo de los participantes totales reclutados para el estudio**

#### **6.4.1 Resultados clínicos**

Los resultados de las pruebas clínicas y de sintomatología realizadas a los participantes de ambos grupos, así como los valores obtenidos de las comparaciones entre ellos y los  $p$ - valores, se presentan en la tabla 20.

Test Clínicos	Control (n = 42) Media ± SD	Alteración de GM (n = 44) Media ± SD	p-Valor
OSDI (0-100)	11.7 ± 4	22.5 ± 23.5	<b>0.00*</b>
VAS (0-100)			
Dolor	3.02 ± 8.2	5.5 ± 14.1	>0.05
Sequedad	21.5 ± 26.8	34.1 ± 29.5	<b>0.00*</b>
Irritación	7 ± 16.1	20.5 ± 21.9	<b>0.00*</b>
Ardor	17.6 ± 22.7	21.3 ± 23.8	<b>0.00*</b>
Picor	16.1 ± 24.2	16.7 ± 25.9	>0.05
Fotofobia	19.4 ± 25.2	18.7 ± 23.2	>0.05
Sensación de cuerpo extraño	13 ± 19.3	18.24 ± 22.2	>0.05
Agudeza Visual	-0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.1	>0.05
Menisco	0.4 ± 1.6	0.2 ± 0.0	>0.05
TBUT	6 ± 2.5	4.5 ± 2.6	<b>0.04*</b>
Tinciones corneales (0-15)	0.37 ± 0.4	0.42 ± 0.6	>0.05
Tinciones conjuntivales (0-18)	0.4 ± 0.7	0.6 ± 1.1	>0.05
Irregularidad del margen palpebral (0-2)	0.1 ± 0.3	0.5 ± 0.5	<b>0.04*</b>
Telangiectasias (0-2)	0.6 ± 0.4	0.8 ± 0.4	<b>0.02*</b>
Taponamientos de los orificios (0-2)	0.0 ± 0.2	0.2 ± 0.3	<b>0.03*</b>
Calidad del meibum (0-4)	0.1 ± 0.5	0.3 ± 0.8	>0.05
Expresión de meibum (0-3)	0.4 ± 0.4	0.5 ± 0.6	>0.05
Meiboscore PS	0.9 ± 0.6	1.3 ± 0.7	<b>0.04*</b>
Meiboscore PI	0.8 ± 0.7	0.9 ± 0.9	>0.05
SD (Desviación estándar) *Diferencias estadísticamente significativas Escalas en anexo A.4			

**Tabla 12: pruebas clínicas realizadas al grupo control y con alteración de las GM. Comparación entre ambos grupos con p-valores.**

Como se observa en la tabla 12, se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y alteración de las GM para las pruebas de sintomatología OSDI y VAS en los síntomas relativos a la sequedad (*p*-valor 0.00), irritación (*p*-valor 0.00) y ardor (*p*-valor 0.00), revelando que los sujetos con alteraciones en las glándulas Meibomio experimentan una sintomatología ocular más severa, lo que concuerda con lo descrito en la literatura.<sup>98,123,124</sup>

En relación también con el test VAS, se analizó si la sintomatología descrita por los participantes en los diferentes grupos de estudio era más prevalente al inicio del día, es decir cuando se levantaban, o al final del día.

Este análisis se realizará por separado para:

- Dos grupos de estudio: grupo control y grupo alteración de las GM
- Tres grupos de estudio: grupo control, usuarios de LC y participantes con patologías relacionadas con las GM.

### Análisis de los dos grupos de estudio (Control vs. Alteración de las GM)

Para analizar si la presencia de alteraciones en las GM influía en el momento del día en el que se percibían los síntomas, se realizó la prueba de chi-cuadrado de independencia. Los resultados de la prueba dieron un  $p$ -valor  $>0,05$ , indicando que no existe una relación entre los dos grupos de estudio y el momento del día en el que los síntomas aparecen. A continuación, se muestra la tabla con la distribución de la aparición de estos síntomas en los dos grupos de estudio y el gráfico de esta distribución.

GRUPO	FINAL DEL DÍA	AL LEVANTARSE	TOTAL
CONTROL	30	12	42
ALTERACIÓN GM	35	9	44
TOTAL	65	21	86

Tabla 13: Distribución de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio y momento del día

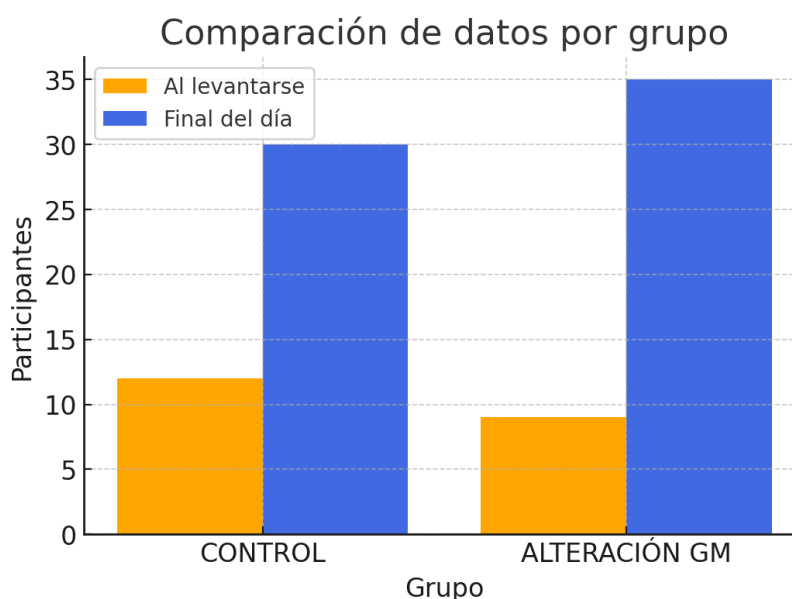


Figura 27: Gráfica de comparación de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio

### Análisis con los subgrupos de estudio (control, LC y patología GM)

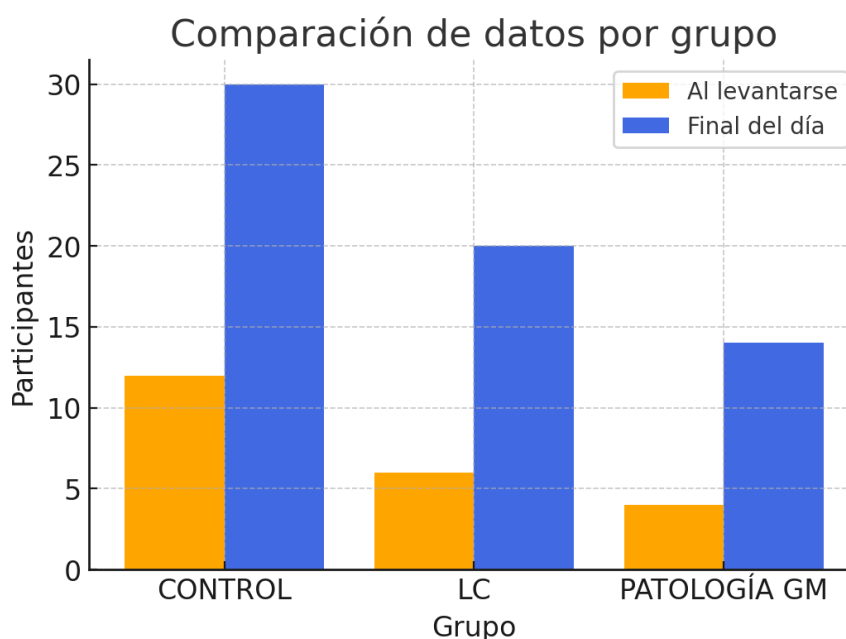
En el análisis con los subgrupos de estudio, control, LC y patología, se observa en la tabla 14. Independientemente del grupo, los síntomas se presentan con mayor frecuencia al final del día. Sin embargo, para determinar si esta diferencia es estadísticamente significativa entre los grupos, se aplicó la prueba de chi-cuadrado.

Se obtuvo un  $p$ -valor  $>0,05$ , lo cual indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en cuanto al momento del día y los síntomas. En otras palabras, el grupo (control, LC o patología GM) no influye significativamente en si los síntomas aparecen en la mañana o al final del día.

A continuación, se muestra la tabla con la distribución de la aparición de estos síntomas en los dos grupos de estudio y el gráfico de esta distribución.

GRUPO	FINAL DEL DÍA	AL LEVANTARSE	TOTAL
CONTROL	30	12	42
LC	20	6	26
PATOLOGÍA GM	14	4	18
<b>TOTAL</b>	<b>64</b>	<b>22</b>	<b>86</b>

**Tabla 14:** Distribución de la aparición de los síntomas según el grupo de estudio y momento del día



**Figura 28:** Gráfica de comparación de la aparición de los síntomas subgrupos de estudio

Con respecto a las pruebas clínicas, estas revelaron diferencias estadísticamente significativas en varios parámetros. En primer lugar, el tiempo de ruptura de la película lagrimal o TBUT mostró un  $p$ -valor de 0.04 indicando inestabilidad en la lagrime entre los participantes del grupo con alteración de GM. Este hallazgo sugiere que la película lagrimal se altera más rápidamente en este grupo, lo que puede contribuir a la sensación

de sequedad y malestar ocular, en concordancia con lo descrito en la bibliografía por Cuevas *et al.*<sup>98</sup>

Además, se observaron alteraciones en la morfología palpebral. La irregularidad del margen palpebral, con un *p*-valor de 0.04, indican que los bordes de los párpados presentan una configuración menos uniforme en aquellos con alteración de las GM. Estos cambios en la morfología palpebral concuerdan con los hallados por Paranjpe *et al*<sup>125</sup>

Asimismo, se encontraron diferencias significativas en la presencia de telangiectasias (*p*-valor de 0.02) y en los taponamientos de los orificios de las glándulas Meibomio (*p*-valor 0.03), con valores más elevados en el grupo afectado. Estos hallazgos son consistentes con la literatura existente que establece una relación entre las alteraciones de las glándulas meibomio y la sintomatología del ojo seco.<sup>7,33,98,126,127</sup>

La altura del menisco lagrimal no presentó alteraciones significativas entre grupos, tal como indican Adil *et al*<sup>128</sup>, este hallazgo podría explicarse por el mecanismo compensatorio de producción del componente acuoso de la lágrima para contrarrestar los efectos de las alteraciones patológicas en las GM.

Finalmente, se observaron diferencias estadísticamente significativas en los meiboscores del párpado superior entre grupos, con un *p*-valor de 0.04, los párpados fueron gradados por un mismo experto empleando la escala de Pult<sup>55</sup>. Los valores de meiboscore para el grupo con alteraciones de las GM fueron mayores, oscilando entre un grado 1-2, lo que supone una pérdida glandular entre un 25-50%, debido a que la morfología está alterada y la ausencia glandular es mayor en este grupo, resultados que concuerdan con la bibliografía.<sup>128,129,130</sup>

#### **6.4.2 Resultados de los contrastes**

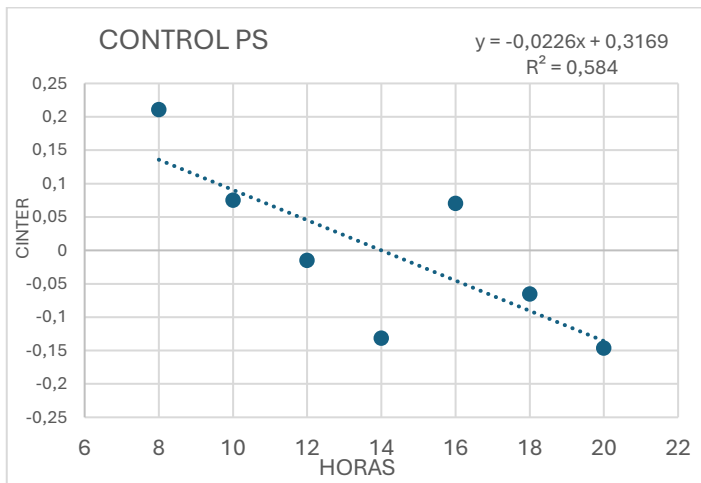
En este apartado se presentan los hallazgos obtenidos a través del análisis de regresión lineal y del ANOVA de medidas repetidas, aplicados al estudio de los contrastes de las GM a lo largo del día. Estos análisis permiten determinar si hay una variación temporal del contraste, así como evaluar la tendencia de cambio de contraste a lo largo del día, en caso de que haya variación. El análisis de regresión lineal permite observar patrones temporales, mientras que el ANOVA de medidas repetidas facilita la comparación de variaciones a lo largo del día. A continuación, se detallan los resultados obtenidos y su interpretación.

- **Análisis de regresión lineal del contraste de las GM a lo largo del día**

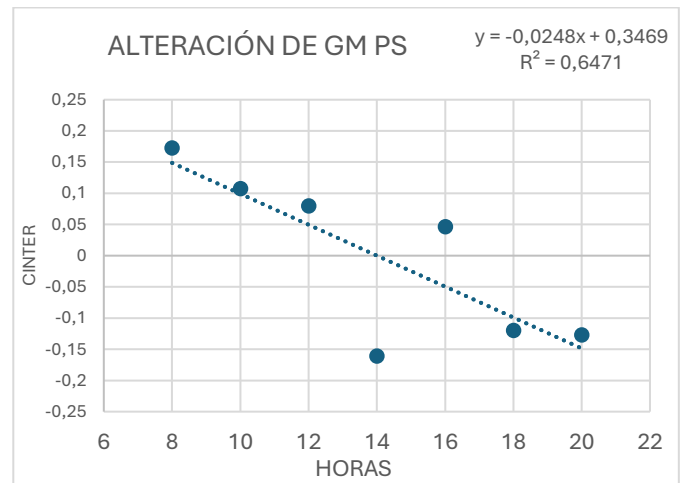
Para evaluar la variación del contraste inter- glándula (CINTER) de las GM a lo largo del día en los distintos grupos de estudio, se realizó un análisis de regresión lineal considerando el tiempo como la variable independiente. Esta evaluación se llevó a cabo tanto para el grupo control como para el grupo con alteración de las GM en ambos párpados, e incluyó un análisis adicional de los subgrupos de sujetos usuarios de lentes de contacto y quienes tienen patología de las GM. La bondad del ajuste se determinó mediante el coeficiente de determinación  $R^2$ , y el cálculo del  $p$ -valor asociado a la pendiente de la recta de regresión. Cuanto mayor sea el valor de  $R^2$ , un mayor porcentaje de la variabilidad de la muestra es explicado por el modelo lineal, mientras que un valor estadísticamente significativo del  $p$  – valor de la pendiente indica que se puede rechazar la hipótesis nula que en nuestro caso indica que no habría variación (al menos en el modelo lineal considerado) del contraste con el tiempo.

A continuación, en la Figura 26, se muestran los resultados obtenidos en ambos grupos para el párpado superior (PS) y el párpado inferior (PI).

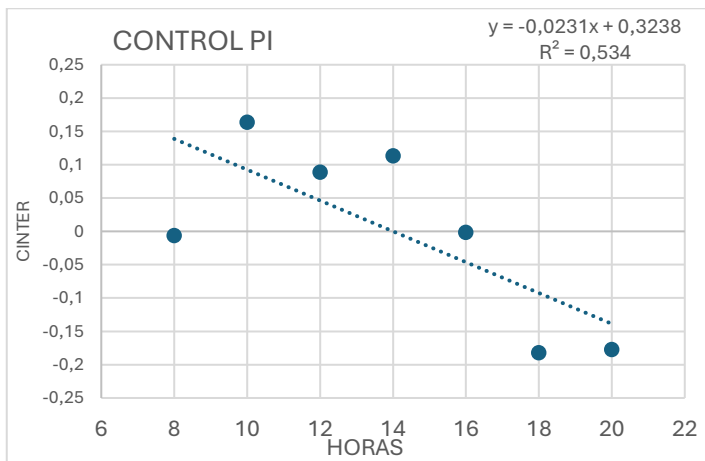
a)



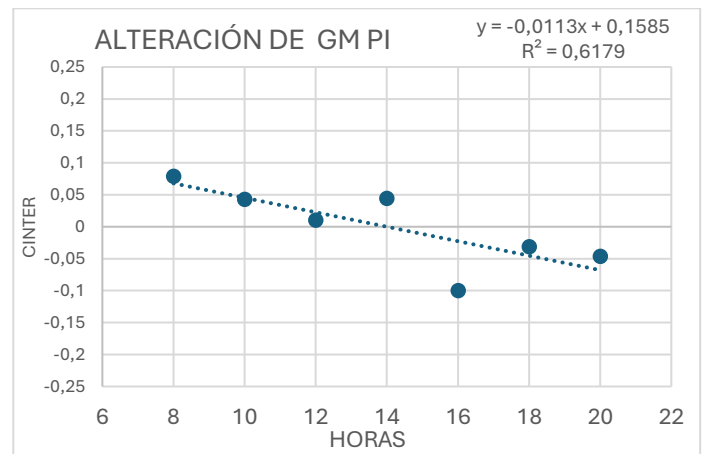
b)



c)



d)



**Figura 29: gráficas del análisis de regresión lineal en ambos grupos de estudio (control a la izquierda y alteración de las GM a la derecha) y en el PS/PI.**

***El análisis del grupo control:***

Reveló un patrón de disminución en el contraste con el paso de las horas:

- En el párpado superior (PS), Figura 29a), el coeficiente de determinación fue  $R^2=0.584$ , indicando que el 58.4% de la variabilidad en CINTER puede ser explicada por el tiempo. La pendiente negativa en este caso (-0.0226) sugiere que el contraste en las GM disminuye con el tiempo en 0.0226 unidades por cada hora. Este modelo fue significativo con un  $p$ -valor en la pendiente de 0.0455,

respaldando la existencia de una disminución temporal del contraste en las glándulas de Meibomio.

- En el párpado inferior (PI), Figura 29c), el modelo reflejó un ajuste lineal ligeramente inferior, con un  $R^2=0.534$  y una pendiente negativa (-0.0231). Aunque esta relación no fue estadísticamente significativa ( $p$ -valor=0.0621), la tendencia sigue indicando una disminución en el contraste a medida que avanza el día.

#### ***El análisis en el grupo de alteración de GM:***

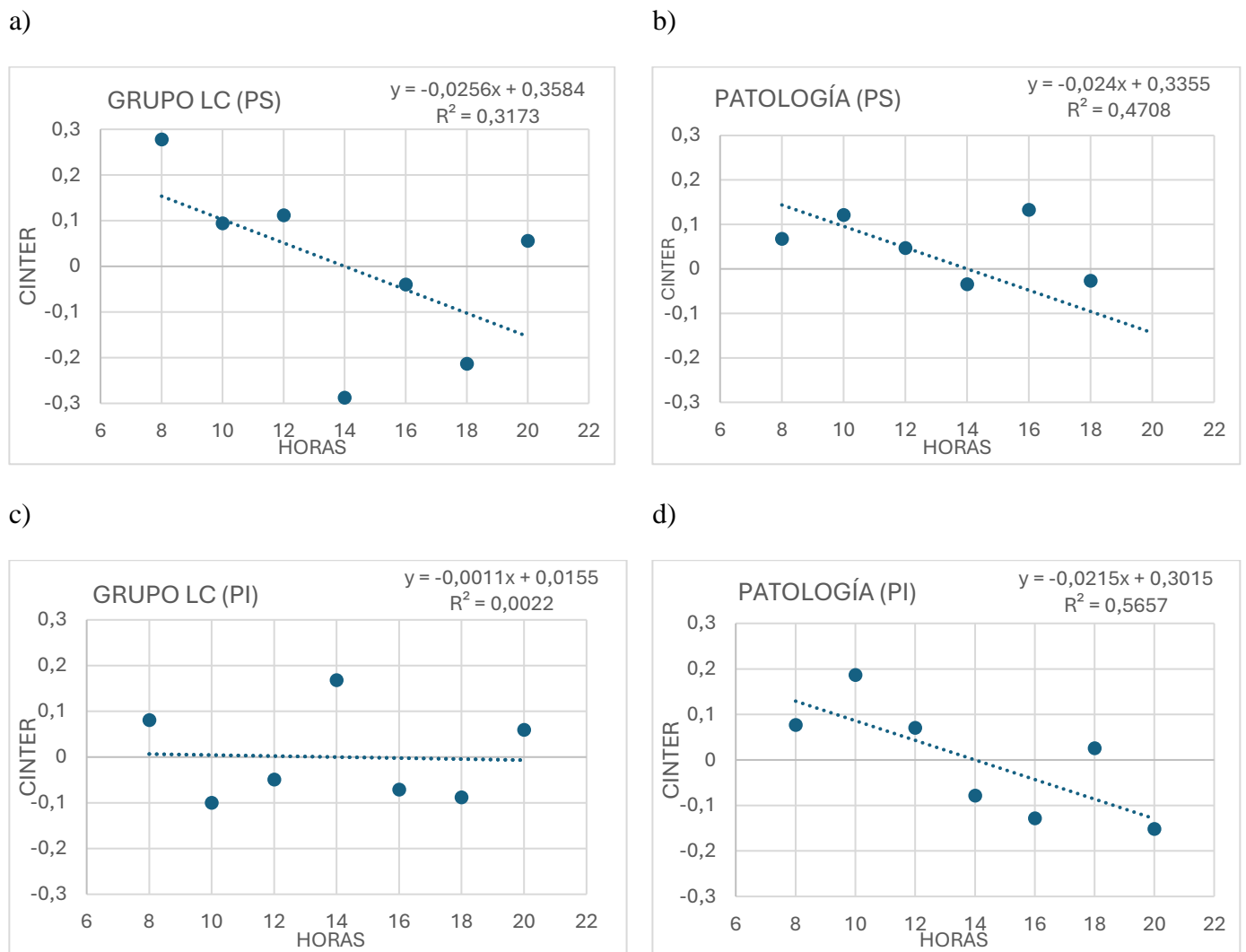
El análisis en este grupo mostró una relación significativa y negativa entre el tiempo transcurrido en el día y los valores de contraste en el párpado superior e inferior, observándose de nuevo, una disminución del contraste a lo largo del día:

- En el párpado superior (PS), Figura 29b), el modelo de regresión lineal presentó un coeficiente de determinación  $R^2=0.6471$ , indicando que el modelo lineal predice un 64.71% de la variabilidad en el contraste (CINTER). Este modelo fue estadísticamente significativo ( $p$ -valor=0.0292 en la pendiente). La pendiente negativa del modelo indica una reducción del contraste en las GM a lo largo del día.
- En el párpado inferior (PI), Figura 29d), el modelo lineal predice 61,8% de la variabilidad del contraste medido, indicando una disminución del contraste con el tiempo estadísticamente significativa ( $p$ -valor = 0.0361)

#### ***Análisis de regresión lineal en los subgrupos:***

Dado que en el grupo de alteración de las GM se incluyeron participantes con lentes de contacto, 26 sujetos, y con patología de estas glándulas (como la DGM o la blefaritis), 18 sujetos, se decidió realizar un análisis separado para determinar si se podía observar variación del contraste de las GM a lo largo del día en cada subgrupo.

A continuación, en la Figura 30 se muestran los resultados obtenidos en los dos subgrupos para el párpado superior (PS) y el párpado inferior (PI).



**Figura 30: gráficas del análisis de regresión lineal en ambos subgrupos: lentes de Contacto, a) PS, c) PI y patología/DGM, b) PS y d) PI.**

Cualitativamente, las gráficas de la Figura 30 muestran, salvo en el PI del grupo de lentes de contacto (Figura 30c), que el contraste tiene una clara tendencia descendente con el tiempo, con una pendiente negativa en torno a -0.02 unidades/hora. Sin embargo, los análisis de regresión no muestran significación estadística, lo que sugiere que el número de pacientes de cada subgrupo es insuficiente para conseguir potencia estadística.

**- Análisis de la varianza ANOVA de medidas repetidas**

Además del análisis de regresión, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas, para evaluar si existían cambios significativos en el contraste de las GM en las siete medidas a lo largo del día en cada grupo por separado.

La siguiente tabla (tabla 15) muestra un análisis para saber si existen diferencias estadísticamente significativas en el contraste de las GM en el párpado superior (PS) e inferior (PI) en los dos grupos de estudio. Los análisis incluyen pruebas de esfericidad, multivariantes y análisis de efecto dentro de sujetos.

La prueba de esfericidad de Mauchly es un análisis estadístico utilizado para evaluar si se cumple el supuesto de esfericidad en un conjunto de datos. La esfericidad es un supuesto estadístico que implica que las varianzas de las diferencias entre todas las combinaciones posibles de niveles de una variable intra-sujeto (como diferentes momentos del día) son iguales. Es un requisito para que las pruebas de ANOVA de medidas repetidas sean válidas. Si no se cumple la esfericidad se aplican correcciones como la de Greenhouse-Geisser para ajustar los grados de libertad.

Las pruebas multivariantes, se aplicaron para evaluar de manera global si existen diferencias significativas en las medidas del contraste entre los diferentes momentos del día y si dichos cambios difieren entre los grupos estudiados.

Por otro lado, el análisis de efectos dentro de sujetos se centró en examinar el contraste lineal del tiempo y su interacción con el grupo. Este enfoque permite identificar si el contraste de las GM sigue un patrón de cambio lineal a lo largo del día y si dicho cambio es diferente entre los grupos de estudio. En comparación con los análisis de regresión efectuados con anterioridad, el análisis de efectos nos va a permitir determinar: 1) si el cambio temporal del contraste es significativo para todos los grupos, 2) detectar si el patrón de cambio (como la pendiente o cambios no lineales) es distinto entre grupos y, finalmente, 3) incorporar interacciones complejas entre grupos de pacientes, considerando además la estructura de las mediciones repetidas dentro de los sujetos.

Variable	Grupo	Prueba de esfericidad	Prueba multivariable	Efectos dentro de sujetos	Conclusión
<b>Párpado Superior (PS)</b>	<b>Control</b>	Mauchly: $p$ -valor =0.249 (Adecuado)	Pillai, Wilks, Hotelling, Roy: $p$ -valor=0.172	F=1.460, $p$ -valor =0.190 (no significativo); Contraste lineal: F=4.331, $p$ -valor=0.040 (significativo)	No hay diferencias significativas en el contraste, se observa una leve <b>tendencia de disminución del contraste*</b> .
<b>Párpado Inferior (PI)</b>	<b>Control</b>	Mauchly: $p$ -valor=0.026 (No adecuado) (Corrección Greenhouse-Geisser)	Pillai, Wilks, Hotelling, Roy: $p$ -valor=0.259	F (Greenhouse-Geisser) =1.352, $p$ -valor =0.232 (no significativo); Contraste lineal: $p$ -valor =0.065 (cerca del umbral)	No hay diferencias significativas en el contraste, se observa una leve <b>tendencia de disminución del contraste**</b>
<b>Párpado Superior (PS)</b>	<b>Alteración</b>	Mauchly: $p$ -valor=0.453 (Adecuado)	Pillai, Wilks, Hotelling: $p$ -valor=0.127	F=1.691, $p$ -valor=0.121 (no significativo); Contraste lineal: $p$ -valor=0.024 (significativo)	No hay diferencias significativas en el contraste, pero sí una <b>tendencia de disminución del contraste*</b>
<b>Párpado Inferior (PI)</b>	<b>Alteración</b>	Mauchly: $p$ -valor=0.075 (Corrección Greenhouse-Geisser)	Pillai, Wilks, Hotelling: $p$ -valor=0.980	F (Greenhouse-Geisser) = no significativo; Contrastes (lineal, cuadrático, cúbico): $p > 0.5$ (no significativo)	<b>No se encontraron diferencias significativas</b> ni en el contraste ni en su tendencia

**Tabla 15: resultados del análisis de ANOVA de medidas repetidas para ambos grupos, separados por tipo de párpado, con las pruebas realizadas y sus  $p$ -valores. \* Con significación estadística, \*\* Sin significación estadística**

En la tabla 15 se pueden observar los resultados obtenidos con el análisis de varianza de los diferentes grupos de estudio, para el grupo control (PS y PI) las pruebas multivariantes indicaron que no existían diferencias estadísticamente significativas en el contraste de las glándulas a lo largo del día. Sin embargo, el análisis de contrastes lineales reveló una tendencia lineal hacia una disminución del contraste en ambos párpados, siendo significativa en el PS ( $p$ -valor =0.04). En el PI, aunque no hay significación estadística, la cercanía del  $p$ -valor obtenido de 0.065 al límite de la significancia (0.05), sugiere una

disminución del contraste a medida que pasa el día. Esta tendencia debería ser confirmada o descartada con un mayor número de casos.

En el grupo con alteración de las GM para el PS se observa una tendencia clara y sostenida de disminución del contraste de las GM en el tiempo, con un contraste lineal significativo ( $p$ -valor=0.024), mientras que en el PI no se encuentran diferencias relevantes, lo que indica que el contraste de las glándulas del PI se mantuvo estable a lo largo del tiempo, sin tendencia a disminuir o a aumentar. Es interesante destacar que en los análisis de regresión lineal se observó una tendencia estadísticamente significativa de reducción del contraste. Además de las discrepancias intrínsecas entre el análisis de regresión y el ANOVA multivariante, consideramos que nuestros datos podrían estar en el límite de potencia estadística necesaria para detectar efectos significativos, lo que refuerza la importancia de incrementar el tamaño muestral para robustecer los hallazgos obtenidos.

- **ANOVA: Para la comparación entre ambos grupos de estudio en el párpado superior**

A continuación, se presentan los resultados de los análisis estadísticos realizados para evaluar el efecto del tiempo y la interacción entre el tiempo y el grupo, en el contraste de las GM a lo largo del día en el párpado superior. Para ello, se emplearon pruebas multivariantes y análisis de efectos dentro de sujetos.

En la tabla 16 se muestran los valores estadísticos obtenidos para el PS, los valores de significancia y las conclusiones derivadas de cada prueba.

<b>Prueba</b>	<b>Efecto evaluado</b>	<b>Valor estadístico</b>	<b>p-valor</b>	<b>Conclusión</b>
<b>Pruebas multivariantes</b>	Efecto del tiempo	Pillai's Trace = 0.093 Lambda de Wilks= 0.907 Hotelling = 0,103	<b>p-valor = 0.013*</b>	Existe un <b>efecto significativo</b> del tiempo sobre el contraste de las glándulas.
	Interacción tiempo x grupo	Pillai's Trace = 0.008 Lambda de Wilks= 0.992 Hotelling= 0.008	<i>p-valor= 0.969</i>	<b>No</b> hay interacción <b>significativa</b> entre <b>el tiempo y el grupo</b> , lo que indica un cambio similar en el contraste para ambos grupos.
<b>Efectos dentro de sujetos</b>	Contraste Lineal del Tiempo	F=9.595	<b>p-valor= 0.002*</b>	Existe un <b>cambio lineal significativo en el contraste</b> a lo largo del tiempo en ambos grupos
	Interacción Lineal Tiempo x Grupo	F=0.008	<i>p-valor= 0.930</i>	La interacción entre el cambio lineal del tiempo y el grupo <b>no es significativa</b> , lo que confirma que ambos grupos presentan un cambio similar en el contraste

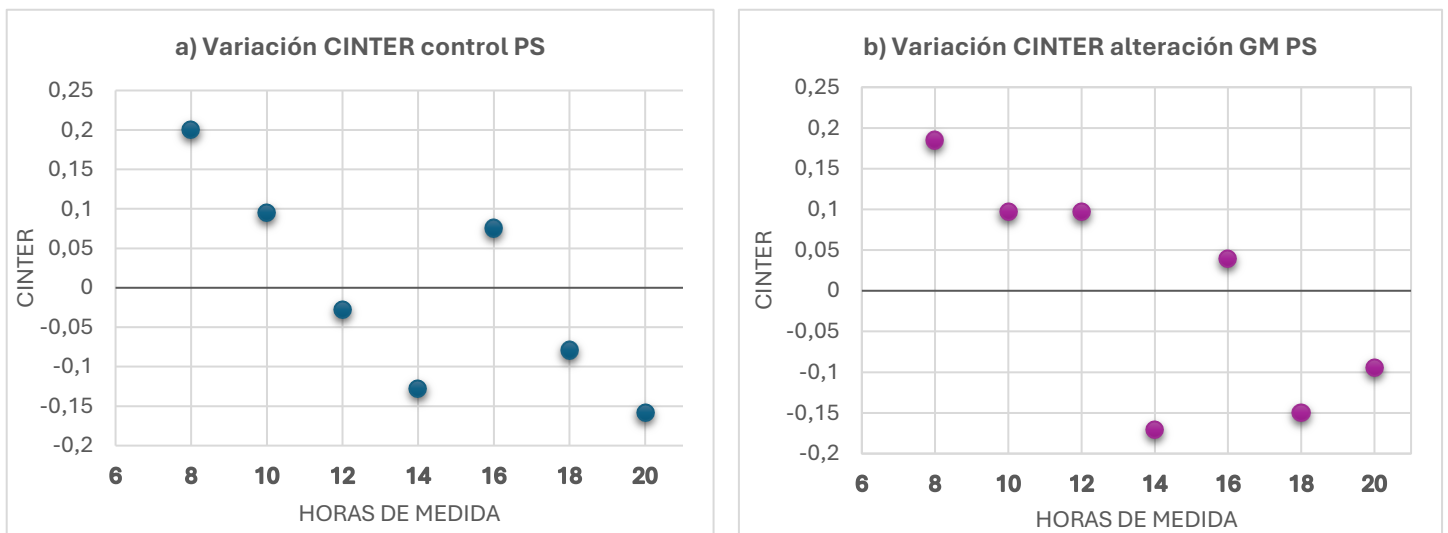
**Tabla 16: resultados para la comparación entre el grupo control y el grupo con alteración de las glándulas de Meibomio (GM) en el PS, basada en los resultados de las pruebas multivariantes y de efectos dentro de sujetos.**

Los resultados obtenidos en la comparación de los grupos de estudio del párpado superior, tabla 16, nos llevan a concluir que el tiempo tiene un efecto significativo sobre el contraste de las glándulas ( $p$ -valor=0.013), mostrando un cambio a lo largo del día en ambos grupos. No se encontró una interacción significativa entre el tiempo y el grupo ( $p$ -valor= 0.969), lo cual indica que el patrón de cambio en el contraste es similar en ambos grupos. Por otra parte, el contraste muestra una tendencia lineal significativa a lo largo del día en ambos grupos ( $p$ -valor= 0.002), pero este cambio no difiere entre grupos (valor=0.930).

Tras analizar las pruebas realizadas, se puede llegar a la conclusión de que el cambio de contraste en el párpado superior de las glándulas de Meibomio (GM) durante el día es leve y no estadísticamente significativo en cada grupo de forma individual, pero al combinar los datos de ambos grupos de estudio, control y alteración de las GM, esta variación del contraste se vuelve significativa, sugiriendo una tendencia global de fluctuación del contraste a lo largo del día, reforzando los hallazgos observados en los análisis de regresión.

En la Figura 31 se puede observar la variación de los contrastes del PS en ambos grupos a lo largo del día. Se aprecia una tendencia general de disminución en los valores de CINTER desde las 8AM hasta las 20 PM. Sin embargo, en la medida realizada a las 16PM, se registró un aumento significativo del contraste en ambos grupos de estudio, y volvieron a disminuir en las dos medidas finales. Este incremento coincide con el inicio de la segunda visita, lo que podría indicar un cambio de condiciones de los sujetos. Este dato se debe tener en cuenta en el diseño de futuros estudios.

Para comprobar si los datos de ambos grupos están correlacionados, es decir si tienen el mismo comportamiento en el PS, se ha realizado la correlación de Pearson, dando como resultado una correlación de  $r: 0,875$ , con un  $p$ -valor de  $0,01$ . Esto indica que ambos grupos en el PS tienen un comportamiento similar en términos de su relación lineal.



**Figura 31: gráficas de variación del contraste normalizado de las glándulas del PS a lo largo del tiempo para a) grupo control y b) grupo patología.**

- **ANOVA: Para la comparación entre ambos grupos de estudio en el párpado inferior**

Se realizó el mismo análisis descrito anteriormente para la comparación entre grupos de estudio para el párpado inferior. En la tabla 17 se presentan los resultados de las pruebas multivariantes y análisis de efectos dentro de sujetos, con los valores estadísticos obtenidos para el PI, los valores de significancia y las conclusiones derivadas de cada prueba.

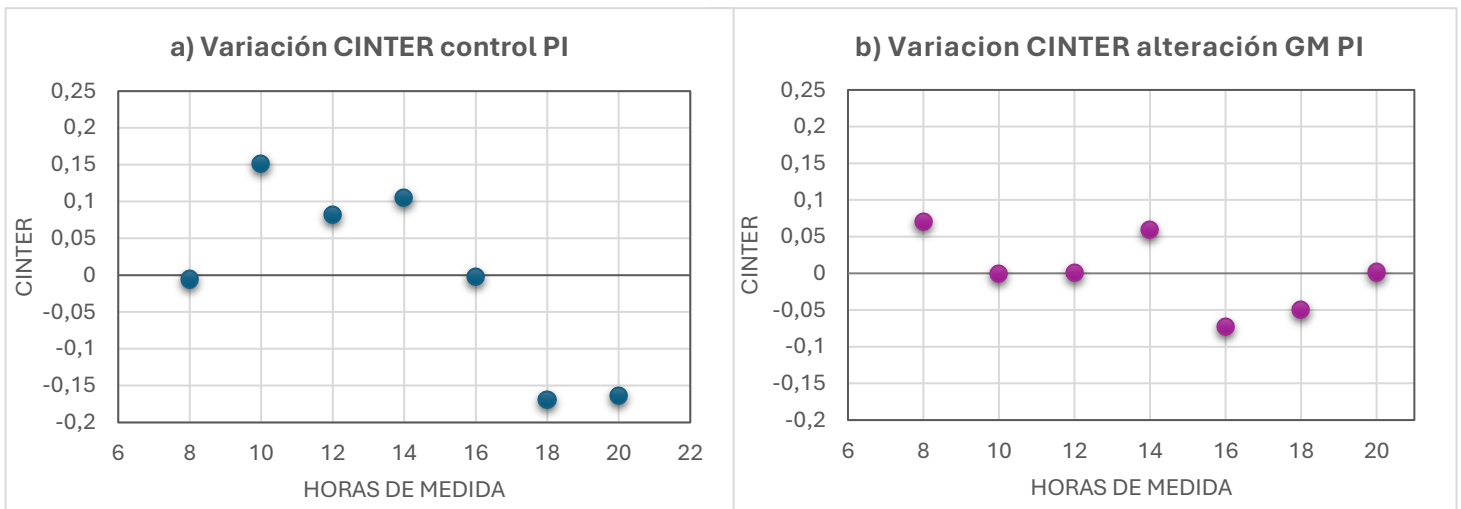
Prueba	Efecto evaluado	Valor estadístico	p-valor	Conclusión
<b>Pruebas multivariantes</b>	Efecto del tiempo	Pillai's Trace = 0.028 Lambda de Wilks= 0.972 Hotelling = 0.028	p-valor = 0.591	<b>No hay un efecto significativo</b> del tiempo sobre el contraste de las glándulas.
	Interacción tiempo x grupo	Pillai's Trace = 0.021 Lambda de Wilks= 0.979 Hotelling = 0.022	p-valor= 0.738	<b>No hay interacción significativa</b> entre el tiempo y el grupo, lo que indica un cambio similar en el contraste para ambos grupos.
<b>Efectos dentro de sujetos</b>	Contraste Lineal del Tiempo	F=1,002	p-valor= 0.424	<b>No se encontró un cambio lineal significativo</b> en el contraste a lo largo del tiempo en ambos grupos
	Interacción Lineal Tiempo x Grupo	F=0.601	p-valor= 0.731	<b>No hay una interacción significativa</b> entre el tiempo y el grupo

**Tabla 17: resultados de la comparación entre el grupo control y el grupo con alteración de las glándulas de Meibomio (GM) en el PI, basada en los resultados de las pruebas multivariantes y de efectos dentro de sujetos.**

El análisis comparativo de los párpados inferiores entre el grupo control y el grupo con alteraciones en las GM mostró que el tiempo no tiene un efecto estadísticamente significativo ( $p\text{-valor} > 0.05$ ). Además, la ausencia de una interacción significativa entre el tiempo y grupo sugiere que ambos grupos en el PI mantienen patrones similares de cambios de contraste a lo largo del día. Este hallazgo de estabilidad en el contraste podría coincidir con resultados de un estudio previo el cual concluyó que la secreción de las

glándulas de Meibomio, cuando se examinan en función de su ubicación en el párpado inferior, no cambia a lo largo día.<sup>122</sup>

A continuación, se muestra la gráfica Figura 32, donde se observan las variaciones de los contrastes CINTER en el párpado inferior. Se observa que la variación del CINTER sigue patrones diferentes en ambos grupos. En la gráfica del grupo con alteración de las GM el contraste es más estable en general, con valores más pequeños comparados con los del grupo control, mientras que la gráfica del grupo control presenta cambios más dinámicos y sus valores de contraste también son mayores. También se ha realizado la correlación de Pearson para ver si tienen comportamientos similares en el PI, dando como resultado  $r: 0,3554$ , indicando una correlación positiva baja.



**Figura 32: variación del contraste normalizado de las glándulas del PI a lo largo del día para a) grupo control y b) grupo patología.**

## 6.5 DISCUSIÓN

En el presente capítulo se muestran los resultados de un estudio cuyo objetivo fue evaluar si existen variaciones en el contraste de las glándulas de Meibomio a lo largo del día en sujetos control y con alteración de las glándulas y, además, determinar si el patrón de cambio de contraste difiere entre ambos grupos, con la finalidad de comprender mejor la funcionalidad y fisiología de estas glándulas.

Previo a la evaluación del contraste glandular, se llevaron a cabo unas pruebas clínicas cuyos resultados han revelado diferencias estadísticamente significativas en la sintomatología ocular entre los dos grupos. Los sujetos con alteraciones en las GM

experimentaron niveles más altos de sequedad, irritación y ardor. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que documentan una correlación entre la disfunción de las GM y la severidad de los síntomas del ojo seco.<sup>124</sup> Además, la evaluación del tiempo de ruptura de la película lagrimal (TBUT) mostró una reducción significativa en el grupo con alteración de las GM, lo que sugiere inestabilidad de la película lagrimal en este grupo de estudio.<sup>132,133,134</sup>

Relativo a la pregunta que se hizo a los participantes en cuanto al momento de aparición de la sintomatología que presentaban con el test VAS, si esta era mayor al inicio del día o al final del mismo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas al analizarla por grupos. Al comparar el grupo control con el de alteración de las GM (LC +DGM) y al hacerlo entre los tres grupos por separado, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, pero sí clínicamente relevantes, ya que la mayoría de los participantes presentaban una mayor sintomatología al final del día, incluido también el grupo control. Esto podría deberse a esa disminución que hay en el contraste glandular al final del día, a la disminución del TBUT o tal vez sea un artefacto y sea necesario estudiar a una muestra mayor.

En relación con los contrastes glandulares, el análisis estadístico demostró que, al analizar la totalidad de la muestra, se comprueba que hay una variación estadísticamente significativa del contraste a lo largo del día. Esto sugiere que, en general, el contraste puede variar temporalmente, lo que podría estar relacionado con cambios en la actividad glandular a lo largo del día o con ciclos circadianos. Quedaría por determinar en futuros estudios si existe una relación más profunda entre el contraste glandular y estos factores.

Incluso con esa tendencia general de variación temporal del contraste, los análisis que se han realizado por separado dentro de cada grupo no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el contraste a lo largo del día. Esto indica que, al evaluar cada grupo por separado, las variaciones en el contraste no alcanzan el umbral de significancia estadística, probablemente debido a la menor potencia estadística y al hecho de que las variaciones son leves en cada grupo. Sin embargo, al combinar ambos grupos de estudio estos pequeños cambios dan lugar a un efecto significativo.

La comparación entre el grupo control y el grupo con alteración de las GM no mostró una interacción significativa entre el tiempo y el grupo de estudio, es decir, el contraste a lo largo del día sigue un patrón similar en ambos grupos y la presencia de alteraciones en estas glándulas no afecta al patrón de cambio diario del contraste. Esto sugiere que,

aunque las alteraciones de las glándulas de Meibomio pueden afectar a la función de la glándula en otros aspectos <sup>97</sup>, no parece modificar la variación diaria en el contraste de manera diferente a la observada en los sujetos sin alteraciones. Esto es relevante, ya que indica que los cambios en el contraste observado no dependen del estado de la glándula sino de un patrón intrínseco compartido, es decir que presentan un comportamiento similar sin importar otros factores.

Los resultados obtenidos en el comportamiento del contraste indican una tendencia significativa a la disminución en el contraste, especialmente en el párpado superior y de forma más pronunciada en el grupo con alteración de las GM. Esta reducción progresiva en el contraste podría estar relacionada con cambios en la calidad de las secreciones lipídicas de las glándulas, posiblemente debidos a factores fisiológicos que afectan al contenido de lípidos y la estabilidad de la película lagrimal con el paso del tiempo, esto podría concordar con que muchas personas sientan que sus síntomas oculares se acentúan por la noche. <sup>133,134,135</sup> En un estudio realizado por Ayaki *et al* <sup>131</sup> en 2019 observó un patrón similar, al observado en el contraste, en el volumen del menisco lagrimal, siendo mayor en las horas de la mañana y disminuyendo hacia la noche, por lo que podría estar relacionado con los ciclos circadianos.

Al analizar el comportamiento en ambos párpados, se observa que el párpado inferior la variación del contraste permanece más estable, lo que sugiere una mayor resistencia a las fluctuaciones diarias.

Este estudio presenta algunas limitaciones importantes que deben considerarse al interpretar los resultados. En primer lugar, la eversión repetida de los párpados introduce variaciones que podrían alterar los patrones del contraste observados. La manipulación del tejido expone las glándulas a cambios en la presión, lo que podría dar lugar a inflamación y alteraciones en la vascularización del tejido, afectando así la calidad de la imagen obtenida. Además, el proceso de obtención de meibografías puede no ser completamente reproducible debido a las variaciones en la posición del párpado y a los reflejos de la luz inducidos por el lagrimeo. Por otro lado, tanto los análisis de regresión como los resultados del ANOVA de medidas repetidas sugieren que, al desglosar los participantes por grupos de patología y usuarios de lentes de contacto, se observa cualitativamente una tendencia clara (en el PS) de descenso del contraste glandular con el tiempo, pero dicha variación no es estadísticamente significativa. Esto sugiere que un mayor tamaño muestral, especialmente en esos subgrupos, podría reforzar los hallazgos.

En conclusión, este estudio aporta nuevos conocimientos sobre el contraste de las glándulas de Meibomio, mostrando que, aunque existen diferencias claras en la sintomatología y signos entre sujetos sanos y aquellos que presentan alteraciones en las GM, el patrón de variación del contraste glandular a lo largo del día se mantiene similar en ambos grupos. Esto sugiere que la variación diurna en el contraste es un fenómeno intrínseco de estas glándulas, posiblemente influido por ciclos circadianos o factores fisiológicos, y no tanto por la funcionalidad de las glándulas. A pesar de sus limitaciones, este trabajo sienta las bases para futuras investigaciones que busquen mejorar la precisión en la evaluación de la función de las GM y su relación con el bienestar ocular.

## ***CAPITULO 7: DISCUSION INTEGRADORA***

En el presente capítulo se presenta una síntesis integradora de los principales hallazgos obtenidos en esta tesis doctoral, estableciendo la relación entre los resultados de los estudios realizados en los capítulos 4, 5 y 6 con los antecedentes expuestos en el capítulo 3. Este análisis permite comprender y contextualizar la relevancia de los descubrimientos alcanzados y su impacto en el conocimiento actual de las glándulas de Meibomio.

La tesis ha abordado la evaluación de las propiedades ópticas de las GM desde una perspectiva diferente, explorando el uso del contraste glandular como marcador en el diagnóstico y seguimiento de patologías de las GM, así como la aplicación de iluminación visible para su visualización.

Los estudios descritos en el capítulo 3 proporcionan una base teórica sólida, demostrando la viabilidad del análisis del contraste glandular mediante diferentes técnicas de imagen, incluyendo la meibografía infrarroja y visible. Los resultados obtenidos demuestran que el contraste glandular puede ser un parámetro clave en la detección de alteraciones de las GM. En particular, se observó que el contraste inter-glandular es significativamente menor en sujetos con patología en comparación con sujetos sanos, lo que sugiere que este parámetro podría emplearse como un marcador objetivo y reproducible.

El estudio presentado en el capítulo 4 evaluó un dispositivo móvil que emplea tecnología accesible y luz visible para la captura y visualización de las GM, proponiéndolo como una alternativa viable, especialmente en entornos con recursos limitados. Los resultados del estudio indican que este sistema presenta una buena repetibilidad intraobservador y una alta confiabilidad en pacientes con patología. Sin embargo, en sujetos sanos, su menor fiabilidad para detectar sutiles diferencias morfológicas sugiere que no es completamente intercambiable con el K5M. A pesar de ello, el análisis de Bland-Altman muestra que las diferencias entre ambos dispositivos se mantienen dentro de los límites aceptables, sin un sesgo sistemático claro.

El capítulo 5 presentó el desarrollo y validación de un sistema de análisis basado en el Deep Learning para la segmentación y cuantificación automática de las imágenes meibográficas obtenidas con el VisMeib. Este enfoque permitió una evaluación más precisa y menos dependiente de la subjetividad del observador, mejorando la fiabilidad en la gradación en comparación con los métodos convencionales.

La integración de técnicas de Deep Learning y la exploración del uso de luz visible en la meibografía representan avances significativos que podrían transformar la manera en que se evalúa y maneja la disfunción glandular en la práctica oftalmológica.

Por otro lado, el capítulo 6 presenta un estudio cuyo objetivo fue evaluar si existen variaciones en el contraste de las GM a lo largo del día en sujetos sanos y aquellos con alteración de las GM. Además, se buscó determinar, en caso de que hubiera cambios temporales en el contraste, si el patrón de cambio difiere entre ambos grupos, con el fin de profundizar en el estudio de las glándulas.

Al evaluar los cambios en el contraste glandular, se observó que el contraste variaba significativamente a lo largo del día al analizar ambos grupos combinados, sin embargo, al analizar cada grupo por separado, las variaciones no fueron estadísticamente significativas, indicando que los cambios observados son pequeños y se podría necesitar mayor tamaño de muestra para ser confirmados.

El estudio reveló una tendencia general a la disminución del contraste a lo largo del día, especialmente en el párpado superior y de manera más pronunciada en el grupo con alteración de las GM. Este descenso podría relacionarse con cambios en la calidad del meibum, la estabilidad lagrimal hacia el final del día, así como con los ciclos circadianos. Por otro lado, el contraste en el párpado inferior se mostró más estable, lo que podría indicar una mayor resistencia a las fluctuaciones diarias. Esto podría hacer pensar en un mecanismo de compensación glandular que mantenga el contenido de lípido en la lágrima en cantidades suficientes para que el sujeto no tenga una sensación de sequedad asociada a una mayor evaporación lagrimal al final del día, no obstante, la sintomatología asociada a la sequedad ocular en general era más frecuente al final del día. Esto apoya de nuevo la necesidad de hacer un estudio con una muestra mayor.

Los resultados sugieren que, a pesar de las diferencias en la morfología glandular y síntomas entre los grupos, ambos presentan patrones de variación del contraste similares a lo largo del día. Esto podría indicar que la variación diurna del contraste en las GM podría deberse a un fenómeno intrínseco de estas glándulas, es decir a la propia fisiología glandular.

Los hallazgos de esta tesis tienen importantes implicaciones para la práctica clínica. En primer lugar, aunque el dispositivo móvil no reemplaza por completo al K5M, su

portabilidad, bajo costo y facilidad de uso lo convierten en una herramienta prometedora para la evaluación clínica y la telemedicina.

En segundo lugar, la aplicación de modelos de Deep Learning en el análisis automatizado de imágenes meibográficas podría mejorar la detección temprana de disfunciones glandulares, permitiendo una intervención más oportuna y personalizada para los pacientes con patologías como la Disfunción de las Glándulas de Meibomio o el ojo seco evaporativo.

Finalmente, el potencial hallazgo de patrones circadianos en la variación del contraste glandular resalta la necesidad de estandarizar los protocolos de evaluación de las glándulas de Meibomio, considerando la influencia de los ritmos biológicos para optimizar el diagnóstico y seguimiento de estas alteraciones relacionadas con las GM.

## ***CAPITULO 8: CONCLUSIONES***

Al finalizar los trabajos experimentales esta tesis doctoral, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. El dispositivo móvil desarrollado, que emplea un filtro dentro del espectro visible, ha demostrado ser una herramienta válida y efectiva para la evaluación clínica de las glándulas de Meibomio, permitiendo la obtención de imágenes con buena calidad y fiabilidad.
2. En sujetos sin alteración de las glándulas de Meibomio, la precisión del dispositivo móvil aún debe ser optimizada para ser completamente intercambiable con los sistemas comerciales.
3. La aplicación de modelos de Deep Learning para la segmentación y análisis automático de imágenes meibográficas ha permitido mejorar la precisión y reproducibilidad en la evaluación de la morfología glandular. Estos modelos han mostrado un alto nivel de concordancia con las evaluaciones realizadas por expertos, reduciendo la subjetividad del diagnóstico.
4. El análisis de la variación diurna del contraste de las GM en sujetos sanos y con alteración de las glándulas mostró una tendencia a la disminución progresiva del contraste a lo largo del día, sugiriendo que factores fisiológicos, como los ciclos circadianos, podrían influir en la variación de contraste glandular.
5. Las alteraciones en las GM no parecen modificar significativamente la tendencia del patrón diurno de disminución del contraste glandular.
6. Para un diagnóstico más preciso de las patologías de las GM, es fundamental combinar técnicas de meibografías con pruebas clínicas y evaluaciones de síntomas oculares. Este enfoque aumenta la exactitud del diagnóstico y proporciona un mayor conocimiento de la salud ocular.
7. La combinación de meibografía con luz visible, inteligencia artificial y análisis del contraste glandular representa una propuesta alternativa que podría facilitar la detección temprana y el seguimiento de patologías relacionadas con las GM. Estos avances podrían mejorar la precisión diagnóstica y ampliar el acceso a estas tecnologías en entornos clínicos con recursos limitados.

## ***CAPITULO 9: LIMITACIONES Y TRABAJO FUTURO***

### **9.1 LIMITACIONES**

Durante el desarrollo de la tesis doctoral se han identificado varias limitaciones que deben considerarse para investigaciones futuras:

1. Muestra: La mayoría de los participantes pertenecen a un mismo contexto clínico, por lo que los resultados podrían no ser completamente generalizables a otras poblaciones o grupos étnicos con diferencias en la estructura y función de las GM.
2. Limitaciones de calidad de imagen debido a factores anatómicos e instrumentales: La precisión en la medida del contraste depende de la calidad de la imagen obtenida, factores como la anatomía del párpado, los reflejos de la luz y la limitada profundidad de campo del dispositivo afectan de forma negativa a la definición de la imagen, en especial en zonas periféricas del párpado.
3. Fiabilidad del dispositivo móvil: Aunque el dispositivo móvil mostró buenos resultados en pacientes con disfunción glandular, su fiabilidad en sujetos sanos fue menor, lo que sugiere que aún no es totalmente intercambiable con el K5M. En particular, algunos aspectos técnicos como el ancho de banda del filtro utilizado o el uso de un sistema de iluminación comercial son susceptible de mejora.
4. Aunque el modelo de Deep Learning mejoró la segmentación y cuantificación de imágenes meibográficas, su precisión sigue dependiendo de la calidad y cantidad de los datos utilizados para su entrenamiento.
5. A pesar de que el contraste glandular mostró ser un parámetro prometedor para la evaluación de las GM, su variabilidad a lo largo del día no alcanzó significancia estadística en los análisis por grupo. Esto podría indicar que los cambios observados son sutiles y requieren muestras más grandes para su confirmación

Si bien esta tesis representa un avance en el estudio de las GM, las limitaciones mencionadas deben considerarse en futuros estudios para mejorar la fiabilidad de los hallazgos y su aplicabilidad en la práctica clínica. Ampliar la muestra, mejorar la

tecnología de captura y optimizar los modelos de inteligencia artificial permitirá fortalecer estos resultados.

## **9.2 TRABAJO FUTURO**

El desarrollo de esta tesis ha puesto de manifiesto varias áreas de mejora e investigación que pueden ser abordadas en trabajos futuros, a continuación, se destacan las principales líneas de desarrollo propuestas:

### **1. Optimización de técnicas de iluminación**

Se plantea estudiar el uso de otros filtros y de polarizadores con el objetivo de mejorar la calidad de la visualización obtenida con el dispositivo VisMeib y con el dispositivo móvil. La incorporación de estos elementos permitirá reducir los reflejos no deseados y mejorar la resolución de las imágenes. También se propone la sustitución de fuentes de luz de espectro ancho por sistemas quasimonocromáticos de tipo LED, lo que permitiría una mayor intensidad de iluminación con la consiguiente reducción de ruido y mejora del contraste. Además, se propone integrar tecnologías que permitan registrar parámetros dinámicos, como la frecuencia del parpadeo, para evaluar su impacto en las características de las GM y la sintomatología asociada.

### **2. Ampliar el tamaño muestral**

La ampliación de la muestra se necesita para incrementar la robustez de los resultados obtenidos, permitiendo una mejor representación estadística de la población analizada, sobre todo en participantes con patología de las GM.

### **3. Implementar la escala visual analógica (VAS) antes de cada eversión palpebral.**

Cuando se realiza la eversión del párpado de forma continuada a lo largo del día, puede llegar a causar molestias derivadas de esta eversión, por eso nos hemos planteado evaluar de forma sistemática el grado de sintomatología antes de cada eversión palpebral. Esto permitirá analizar como varía la percepción sintomática a lo largo del día y si el procedimiento de eversión afecta positiva o negativamente a los síntomas. Asimismo, analizar la secreción lipídica en cada toma de imágenes para estudiar la posible relación entre estos parámetros y el patrón diario de disminución del contraste.

### **4. Análisis longitudinal y variabilidad temporal.**

Diseñar estudios longitudinales que permitan observar cambios en las GM y la sintomatología a lo largo de periodos prolongados.

5. Refinar los modelos de Deep Learning para mejorar la precisión en la detección de alteraciones glandulares
6. Explorar como la IA, en particular las redes neuronales con capas “transformers”, puede correlacionar las alteraciones de las GM con la sintomatología.
7. Profundizar en la relación de los ciclos circadianos y la secreción de las glándulas de meibomio para comprender mejor su comportamiento.

Estas propuestas permitirían no solo mejorar la comprensión de la dinámica funcional de las GM, sino también avanzar en el desarrollo de herramientas diagnósticas más accesibles y tratamientos más personalizados para las disfunciones glandulares

## BIBLIOGRAFÍA

1. 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(4):1938–78.
2. Bründl M, Garreis F, Schicht M, Dietrich J, Paulsen F. Characterization of the innervation of the meibomian glands in humans, rats and mice. *Ann Anat.* 2021; 233:151609.
3. Dietrich J, Garreis F, Paulsen F. Pathophysiology of meibomian glands—an overview. *Ocul Immunol Inflamm.* 2021;29(4):803–10.
4. Opitz D, Harthan J. SF-C. Diagnosis and management of meibomian gland dysfunction: optometrists' perspective [Internet]. *researchgate.net*; 2015 [cited 2018 May 14].
5. Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, Holopainen JM, Laurie GW, Millar TJ, et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):366–403.
6. Butovich IA. Tear film lipids. *Exp Eye Res.* 2013; 117:4–27.
7. Tomlinson A, Bron AJ, Korb DR, Amano S, Paugh JR, Pearce EI, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(4):2006–49.
8. Nichols KK, Foulks GN, Bron AJ, Glasgow BJ, Dogru M, Tsubota K, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Executive Summary. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(4):1922–9.
9. Tortora GJ. *Principles Of Anatomy and Physiology.* 12th ed. John Wiley & Sons; 2012. 929 p.
10. Brüel A, Geneser F. *Geneser histología.* 4th ed. Editorial Médica Panamericana; 2015.
11. Oculistique RT-A. Etude biomicroscopique des glandes de meibomius. *ci.nii.ac.jp*; 1977.
12. Tiffany JM. The Lipid Secretion of the Meibomian Glands. *Adv Lipid Res.* 1987; 22:1–62.
13. Kim HM, Eom Y, Song JS. The relationship between morphology and function of the meibomian glands. *Eye Contact Lens.* 2018;44(1):1–5.
14. Liu, H., Begley, C., Chen, M., Bradley, A., Bonanno, J., McNamara, N., Nelson, J, Nelson, & Simpson, T. (2009). A link between tear instability and hyperosmolarity in dry eye. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50 8, 3671 9. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2689>.
15. Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, Craig JP, McCulley JP, Den S, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(4):1930–7.

16. Jackson WB. Blepharitis: current strategies for diagnosis and management. *Can J Ophthalmol*. 2008;43(2):170–9.
17. Mcoptom GB, Ip D, Mcoptom IC, Ip D. Blepharitis, but not as you know it. *Johnson & Johnson Vis Care*. 2014;48–52.
18. Vassallo J, Pirota S. Blepharitis. *The Synapse*. 2015;14(2):12–3.
19. Gilbard JP. Dry eye, blepharitis and chronic eye irritation: divide and conquer. *J Ophthalmic Nurs Technol*. 1999 May-Jun;18(3):109–15. PMID: 10633658.
20. Arita R, Zavala M, Yee RW. MGD Diagnosis. *Curr Ophthalmol Rep*. 2014;2(2):49–57.
21. Villani E, Marelli L, Dellavalle A, Serafino M, Nucci P. Latest evidence on meibomian gland dysfunction diagnosis and management. *Ocul Surf*. 2020;18(4):871–92.
22. Wise RJ, Sobel RK, Allen RC. Meibography: A review of techniques and technologies. *Saudi J Ophthalmol*. 2012 Oct 1;26(4):349–56.
23. Pult H, Riede-Pult BH. Non-contact meibography in diagnosis and treatment of non-obvious meibomian gland dysfunction. *J Optom*. 2012;5(1):2–5.
24. Vergés C, Salgado-Borges J, de Ribot FM. Evaluación prospectiva de una nueva luz pulsada intensa, Thermaeye Plus, en el tratamiento de la enfermedad del ojo seco por disfunción de la glándula de Meibomio.
25. 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(5):911–5.
26. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the ocular surface disease index. *JAMA Ophthalmol*. 2000;118(5):615–21.
27. Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain*. 1983;17(1):45–56.
28. Paugh JR, Kwan J, Christensen M, Nguyen AL, Senchyna M, Meadows D. Development of a Meibomian gland dysfunction–specific symptom questionnaire. *Eye Contact Lens*. 2018;44(1):6–14.
29. 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(2):55–60.
30. Chalmers RL, Begley CG, Moody K, Hickson-Curran SB. Contact Lens Dry Eye Questionnaire-8 (CLDEQ-8) and opinion of contact lens performance. *Optom Vis Sci*. 2012;89(10):1435–42.

31. Geerling G, Baudouin C, Aragona P, Rolando M, Boboridis KG, Benítez-Del-Castillo JM, et al. Emerging strategies for the diagnosis and treatment of meibomian gland dysfunction: Proceedings of the OCEAN group meeting. *Ocul Surf.* 2017;15(2):179–92.
32. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea.* 2003;22(7):640–50.
33. Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf.* 2003;1(3):107–26.
34. Arita R. Meibography: a Japanese perspective. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(14)- 55.
35. Korb DR, Henriquez AS. Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *J Am Optom Assoc.* 1980;51(3):243–51.
36. Ong BL, Larke JR. Meibomian gland dysfunction: some clinical, biochemical and physical observations. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1990; 10:144–8.
37. Arita R, Itoh K, Inoue K, Kuchiba A, Yamaguchi T, Amano S. Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology.* 2009; 116:379–84.
38. Alghamdi WM, Markoulli M, Holden BA, Papas EB. Impact of duration of contact lens wear on the structure and function of the meibomian glands. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2016;36(2):120–31.
39. Hom MM, Martinson JR, Knapp LL, Paugh JR. Prevalence of meibomian gland dysfunction. *Optom Vis Sci.* 1990;67(9):710–2.
40. Nichols JJ, Sinnott LT. Tear film, contact lens, and patient-related factors associated with contact lens-related dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47:1319–28.
41. Ngo W, Srinivasan S, Jones L. Historical overview of imaging the meibomian glands. *J Optom.* 2013;6(1):1–8.
42. Napoli PE, Coronella F, Satta GM, Iovino C, Sanna R, Fossarello M. A simple novel technique of infrared meibography by means of spectral-domain optical coherence tomography: a cross-sectional clinical study. *PLoS One.* 2016;11(10)
43. Yokoi N, Komuro A, Yamada H, Maruyama K, Kinoshita S. A newly developed video-meibography system featuring a newly designed probe. *Jpn J Ophthalmol.* 2007;51:53–6.
44. Garza-Leon M, Ramos-Betancourt N, de la Vega FB, Hernández-Quintela E. Meibografía. Nueva tecnología para la evaluación de las glándulas de Meibomio. *Rev Mex Oftalmol.* 2017;91(4):165–71.
45. Arita R, Suehiro J, Haraguchi T, Shirakawa R, Tokoro H, Amano S. Objective image analysis of the meibomian gland area. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(6):746–55.

46. Park J, Kim J, Lee H, Park M, Baek S. Functional and structural evaluation of the meibomian gland using a LipiView interferometer in thyroid eye disease. *Can J Ophthalmol*. 2018;53(4):373–9.
47. Sevim DG, Gumus K, Unlu M. Reliable, noncontact imaging tool for the evaluation of meibomian gland function: Sirius meibography. *Eye Contact Lens*. 2020;46
48. Kobayashi A, Yoshita T, Sugiyama K. In vivo findings of the bulbar/palpebral conjunctiva and presumed meibomian glands by laser scanning confocal microscopy. *Cornea*. 2005;24(8):985–8.
49. Matsumoto Y, Sato EA, Ibrahim OM, Dogru M, Tsubota K. The application of in vivo laser confocal microscopy to the diagnosis and evaluation of meibomian gland dysfunction. *Mol Vis*. 2008;14:1263.
50. Matsumoto Y, Shigeno Y, Sato EA, Ibrahim OM, Saiki M, Negishi K, et al. The evaluation of the treatment response in obstructive meibomian gland disease by in vivo laser confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247:821–9.
51. Hwang HS, Park CW, Joo CK. Novel noncontact meibography with anterior segment optical coherence tomography: Hosik meibography. *Cornea*. 2013;32(1):40–3.
52. Bizheva K, Lee P, Sorbara L, Hutchings N, Simpson T. In vivo volumetric imaging of the human upper eyelid with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2010;15(4):040508.
53. Pult H, Nichols JJ. A review of meibography. *Optom Vis Sci*. 2012;89(5)–9.
54. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, et al. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea*. 1998;17(1):38.
55. Pult H, Riede-Pult B. Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens Anterior Eye*. 2013;36(1):22–7.
56. Nichols JJ, Berntsen DA, Mitchell GL, Nichols KK. An assessment of grading scales for meibography images. *Cornea*. 2005;24(4):382–8.
57. National Institute of Mental Health. ImageJ [Internet]. Estados Unidos de América; [1997; actualizado 10 dic 2019; citado 3 mayo 2023]. Disponible en: <https://imagej.net>
58. MathWorks. Matlab® [Internet]. Estados Unidos de América; [1984; actualizado 15 mar 2022; citado 3 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.mathworks.com>
59. Koh YW, Celik T, Lee HK, Petznick A, Tong L. Detection of meibomian glands and classification of meibography images. *J Biomed Opt*. 2012;17(8):086008.

60. Setu MAK, Horstmann J, Schmidt S, Stern ME, Steven P. Deep learning-based automatic meibomian gland segmentation and morphology assessment in infrared meibography. *Sci Rep.* 2021;11(1):7649.
61. Prabhu SM, Chakiat A, Shashank S, Vunnava KP, Shetty R. Deep learning segmentation and quantification of Meibomian glands. *Biomed Signal Process Control.* 2020;57:101776.
62. Wang J, Li S, Yeh TN, Chakraborty R, Graham AD, Stella XY, et al. Quantifying meibomian gland morphology using artificial intelligence. *Optom Vis Sci.* 2021;98(9):1094–103.
63. Wang J, Yeh TN, Chakraborty R, Yu SX, Lin MC. A deep learning approach for meibomian gland atrophy evaluation in meibography images. *Transl Vis Sci Technol.* 2019;8(6):37.
64. Yeh CH, Yu SX, Lin MC. Meibography phenotyping and classification from unsupervised discriminative feature learning. *Transl Vis Sci Technol.* 2021;10(2):4. doi:10.1167/tvst.10.2.4.
65. Affonso C, Rossi ALD, Vieira FHA, de Carvalho ACPLF. Deep learning for biological image classification. *Comput Electron Agric.* 2017;142:536-42. doi:10.1016/j.compag.2017.05.009
66. Wang P, Fan E, Wang P. Comparative analysis of image classification algorithms based on traditional machine learning and deep learning. *Pattern Recognit Lett.* 2021;141:61-7. doi:10.1016/j.patrec.2020.07.012.
67. Rosbash M, Hall J. The molecular biology of circadian rhythms. *Neuron.* 1989;3:387-98. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90199-2](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90199-2)
68. Romano A, Peisich A, Madjarov B. The circadian rhythm of lacrimal secretion and its parameters, determined in a group of healthy individuals, and its potential diagnostic and therapeutic significance. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes: Basic Science and Clinical Relevance.* 1994:93-7.
69. Huang S, Jiao X, Lu D, Pei X, Qi D, Li Z. Light cycle phase advance as a model for jet lag reprograms the circadian rhythms of murine extraorbital lacrimal glands. *Ocul Surf.* 2021;20:95-114.
69. Huang S, Jiao X, Lu D, Pei X, Qi D, Li Z. Light cycle phase advance as a model for jet lag reprograms the circadian rhythms of murine extraorbital lacrimal glands. *Ocul Surf.* 2021;20:95-114.
70. Holly FJ. Physical chemistry of the normal and disordered tear film. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 1985;104:374-80.
71. Shen M, Wang J, Tao A, Chen Q, Lin S, Qu J, et al. Diurnal variation of upper and lower tear menisci. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(5):801-6
72. Peral A, Alonso J, Gomez-Pedrero JA. Effect of Illuminating wavelength on the contrast of meibography images. *OSA Contin.* 2018;1(3):1041–54.

73. Lee SM, Park I, Goo YH, Choi D, Shin MC, Kim EC, et al. Validation of alternative methods for detecting meibomian gland dropout without an infrared light system: red filter for simple and effective meibography. *Cornea*. 2019;38(5):574–80.
74. Nagyová B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res*. 1999;19(1):4–11.
75. Craig JP, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci*. 1997;74(1):8–13.
76. Mathers WD, Shields WJ, Sachdev MS, Petroll WM, Jester JV. Meibomian gland dysfunction in chronic blepharitis. *Cornea*. 1991;10(4):277–85.
77. Celik T, Lee HK, Petznick A, Tong L. Bioimage informatics approach to automated Meibomian gland analysis in infrared images of meibography. *J Optom*. 2013;6(4):194–204.
78. Koprowski R, Wilczyński S, Olczyk P, Nowińska A, Węglarz B, Wylęgała E. A quantitative method for assessing the quality of Meibomian glands. *Comput Biol Med*. 2016;75:130–8.
79. Koprowski R, Tian L, Olczyk P. A clinical utility assessment of the automatic measurement method of the quality of Meibomian glands. *Biomed Eng Online*. 2017;16(1):82.
80. Swiderska K, Blackie CA, Maldonado-Codina C, Fergie M, Morgan PB, Read ML. Development of Artefact-Free Imaging System for Accurate Meibomian Gland Reflectivity Assessment. *Transl Vis Sci Technol*. 2023;12(2):9-9.
81. Diz-Arias E, Fernández-Jiménez E, Peral A, Gomez-Pedrero JA. Role of instrumental factors in Meibomian gland contrast assessment. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2023;43(5):1050-8.
82. Hetch E. *Óptica*. Madrid: Pearson; 2016.
83. Yeh TN, Meng CL. Meibomian gland contrast sensitivity and specificity in the diagnosis of lipid-deficient dry eye: a pilot study. *Optom Vis Sci*. 2021;98:121–6.
84. Diz Arias E. *Desarrollo de herramientas de procesamiento de imágenes e inteligencia artificial para la valoración de las glándulas de Meibomio* [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2024.
85. Yeh, T., & Lin, M. (2018). Repeatability of Meibomian Gland Contrast, a Potential Indicator of Meibomian Gland Function. *Cornea*, 38, 256–261.
86. García-Marqués JV, García-Lázaro S, Martínez-Albert N, Cerviño A. Meibomian glands visibility assessment through a new quantitative method. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021;259:1323–31.

87. Diz-Arias E, Fernandez-Jimenez E, Peral A, Gomez-Pedrero JA. Code for computing Meibomian gland contrast. GitHub. <https://github.com/Infor-UCM/ContrasteMG>. [Internet]. 2022. Accessed 24 April, 2023.
88. Zuiderveld K. Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization. *Graphic Gems IV*. San Diego: Academic Press Professional; 1994. p. 474–85.
89. Lilliefors, H. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov Test for Normality with Mean and Variance Unknown. *Journal of the American Statistical Association*, 62(318), 399–402.
90. Miller, R., Acton, C., Fullerton, D., Maltby, J., & Campling, J. (2022). Analysis of Variance (ANOVA). *The SAGE Encyclopedia of Research Design*.
91. Arita R, Minoura I, Morishige N, Shirakawa R, Fukuoka S, Asai K, et al. Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction. *Am J Ophthalmol*. 2016 Sep 1;169:125–37.
92. McCann L, Tomlinson A. Tear and meibomian gland function in blepharitis and normals. *Eye Contact Lens*. 2009;35(5):237-243.
93. Abdelfattah NS, Dastiridou A, Sadda SR, Lee OL. Noninvasive Imaging of Tear Film Dynamics in Eyes with Ocular Surface Disease. *Cornea*. 2015;34–S52
94. Bland JM, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;327(8476):307-310.
95. Olive ML, Smith BW. Effect size calculations and single subject designs. *J Educ Psychol*. 2005;25(2-3):313-324.
96. Ban Y, Shimazaki-Den S, Tsubota K, Shimazaki J. Morphological Evaluation of Meibomian Glands Using Noncontact Infrared Meibography. *Ocul Surf*. 2013;11:47–53.
97. Wong S, Srinivasan S, Murphy PJ, Jones L. Comparison of Meibomian Gland Dropout Using Two Infrared Imaging Devices. *Contact Lens Anterior Eye*. 2019;42:311–317.
98. Cuevas M, González-García MJ, Castellanos E, Quispaya R, De la Parra P, Fernández I, Calonge M. Correlations among Symptoms, Signs, and Clinical Tests in Evaporative-Type Dry Eye Disease Caused by Meibomian Gland Dysfunction (MGD). *Curr Eye Res*. 2012; 37:855–863.
99. Srinivasan S, Menzies K, Sorbara L, Jones L. Infrared Imaging of Meibomian Gland Structure Using a Novel Keratograph. *Optom Vis Sci*. 2012;89(5):788–794.
100. Technologies XXXIV [Internet]. SPIE; 2024 Mar [cited 2024]. Vol. 12824, p. 77-81.
101. Ullrich K, Malhotra R, Cascone N, Siah WF, Litwin AS. Evaluating a simpler method of noncontact infrared meibography using still photography. *Cornea*. 2019;38(8):e32-e34.

102. Anissa GH, Nora RLD, Widyawati S, Sitompul R, Yusuf PA, Kekalih A. Red filter meibography by smartphones in patients with meibomian gland dysfunction: a validity and reliability study. *BMJ Open Ophthalmology*. 2024;9(1).
103. ([https://hoyafilter.com/product/r1\\_pro\\_red/](https://hoyafilter.com/product/r1_pro_red/))
104. Jobson DJ, Rahman Z, Woodell GA. A multiscale retinex for bridging the gap between color images and the human observation of scenes. *IEEE Trans Image Process*. 1997 Jul;6(7):965-76. doi: 10.1109/83.597272.
105. Petro AB, Sbert C, Morel JM. Multiscale Retinex. *Image Process Online*. 2014;4:71-88. doi: 10.5201/ipol.2014.107.
106. Damasceno RW, Avgitidou G, Belfort R, Dantas PEC, Holbach LM, Heindl LM. Eyelid aging: pathophysiology and clinical management. *Arq Bras Oftalmol*. 2015;78(5):328–31. doi:10.5935/0004-2749.20150087.
107. Kitazawa K, Inotmata T, Shih KC, Hughes JWB, Bozza N, Tomioka Y, et al. Impact of aging on the pathophysiology of dry eye disease: A systematic review and meta-analysis. *Ocul Surf*. 2022;25:108–18. doi:10.1016/j.jtos.2022.06.004.
108. Liang F, Xu Y, Li W, Ning X, Liu X, and Liu A. Recognition algorithm based on improved FCM and rough set for Meibomian gland morphology, *Appl Sci*, 2017,7(2):192
109. Rajan S., Ponnas S., An efficient enhanced stacked auto encoder assisted optimized deep neural network for forecasting Dry Eye Disease, *Scientific Reports*, (2024) 14; 24945. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75518-7>
110. Setu MAK, Horstmann J, Schmidt S, Stern ME, Steven P. Deep learning-based automatic meibomian gland segmentation and morphology assessment in infrared meibography. *Sci Rep* 2021;11:7649. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87314-8>
111. Prabhu SM, Chakiat A, Shashank S, Vunnava KP, Shetty R. Deep learning segmentation and quantification of Meibomian glands. *Biomed Signal Process Control* 2020;57:101776. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2019.101776>
112. Wang J, Li S, Yeh TN, Chakraborty R, Graham AD, Stella XY, et al. Quantifying meibomian gland morphology using artificial intelligence. *Optom Vis Sci* 2021;98:1094-103. <https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000001767>
113. Llorens-Quintana C, Rico-del-Viejo L, Syga P, Madrid-Costa D, Iskander DR. A novel automated approach for infrared-based assessment of meibomian gland morphology. *Transl Vis Sci Technol* 2019;8:17. <https://doi.org/10.1167/tvst.8.4.17>
114. Iradier MT, del Buey MÁ, Peris-Martínez C, Cedano P, Piñero DP. Characterization and Prediction of the Clinical Outcome of Intense Pulsed Light-Based Treatment in Dry Eye Associated to Meibomian Gland Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. 2021; 10(16):3573. <https://doi.org/10.3390/jcm10163573>

115. Yu Y, Zhou Y, Tian M, Zhou Y, Tan Y, Wu L, Zheng H, Yang Y. Automatic identification of meibomian gland dysfunction with meibography images using deep learning. *Int Ophthalmol*. 2022 Nov;42(11):3275-3284. doi: <https://doi.org/10.1007/s10792-022-02262-0>
116. Graham, Andrew D. and Kothapalli, Tejasvi and Wang, Jiayun and Ding, Jennifer and Tse, Vivien and Asbell, Penny and Yu, Stella and Lin, Meng C., A Machine Learning Approach to Predicting Dry Eye-Related Signs, Symptoms and Diagnoses from Meibography Images. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4724519>
117. Krizhevsky A, Sutskever I, and E. Hinton GE. ImageNet classification with Deep Convolutional Neural Networks 2017, *ACM Comm*; 60(6):84-90
118. Szegedy C, Liu W, Jia Y, Sermanet P, Reed S, Anguelov D, Erhan D, Vanhoucke V, and Rabinovich A. Going deeper with convolutions 2015, *IEEE Conference Computer Vision Pattern Recognition*; 1-9
119. Simonyan K, and Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition 2015, *ArXiv Preprint*; 1409.1555v6.
120. Tung CI, Perin AF, Gumus K, Pflugfelder SC. Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(2):301-310
121. Blackie C, Korb D. Recovery time of an optimally secreting meibomian gland. *Cornea*. 2009;28:293-7. doi: 10.1097/ICO.0b013e31818913b4.
122. Blackie C, Korb D. The diurnal secretory characteristics of individual meibomian glands. *Cornea*. 2010;29:34-8. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181ac9fd0.
123. Begley CG, Chalmers RL, Mitchell GL, Nichols KK, Caffery B, Simpson T, et al. Characterization of ocular surface symptoms from optometric practices in North America. *Cornea*. 2001;20(6):610-8.
124. Teo CHY, Ong HS, Liu YC, Tong L. Meibomian gland dysfunction is the primary determinant of dry eye symptoms: Analysis of 2346 patients. *Ocul Surf*. 2020;18(4):604-12.
125. Paranjpe V, Tan J, Nguyen J, Lee J, Allegood J, Galor A, et al. Clinical signs of meibomian gland dysfunction (MGD) are associated with changes in meibum sphingolipid composition. *Ocul Surf*. 2019;17(2):318-26.
126. Wong S, Srinivasan S, Murphy PJ, Jones L. Comparison of meibomian gland dropout using two infrared imaging devices. *Cont Lens Anterior Eye*. 2019;42(3):311-7.
127. Ban Y, Shimazaki-Den S, Tsubota K, Shimazaki J. Morphological evaluation of meibomian glands using noncontact infrared meibography. *Ocul Surf*. 2013;11(1):47-53.
128. Adil MY, Xiao J, Olafsson J, Chen X, Lagali NS, Ræder S, et al. Meibomian gland morphology is a sensitive early indicator of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol*. 2019;200:16-25.

129. Eom Y, Lee JS, Kang SY, Kim HM, Song JS. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and meibomian gland loss in patients with obstructive meibomian gland dysfunction and normal controls. *Am J Ophthalmol*. 2013;155(6):1104-10.
130. Zhang J, Wu Z, Sun L, Liu XH. Function and morphology of the meibomian glands using a LipiView interferometer in rotating shift medical staff. *PLoS One*. 2020;15(8). doi: 10.1155/2020/3275143.
131. Ayaki M, Tachi N, Hashimoto Y, Kawashima M, Tsubota K, Negishi K. Diurnal variation of human tear meniscus volume measured with tear strip meniscometry self-examination. *PLoS One*. 2019;14. doi: 10.1371/journal.pone.0215922.
132. Pastor-Zaplana J, Gallar J, Acosta M. Functional changes of the ocular surface sensory nerves due to contact lens use in young symptomatic and asymptomatic users. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2023;64:42.
133. Nair R, Jacob S, Praveena K, Latha N, Vishnupriya M. A study to assess meibomian gland morphology using meibography in posterior blepharitis patients and normal population: A hospital-based observational study. *Kerala J Ophthalmol*. 2023;35:42-8. doi: 10.4103/kjo.kjo\_135\_21.
134. Arita R, Morishige N, Koh S, Shirakawa R, Kawashima M, Sakimoto T, et al. Increased tear fluid production as a compensatory response to meibomian gland loss: A multicenter cross-sectional study. *Ophthalmology*. 2015;122(5):925-33. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.12.018.
135. Lira M, Oliveira ME, Franco S. Comparison of the tear film clinical parameters at two different times of the day. *Clin Exp Optom*. 2011;94:557-62. PMID:21883458.

# ANEXOS

## A.1 Aprobación del comité de ética



Dictamen Protocolo Favorable  
C.P. E04/DPI2016-75272-R - C.I. 16/550-E  
21 de diciembre de 2016

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICACIÓN

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 14/12/2016, acta 12.1/16 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: "VERIFICACIÓN DE UNA NUEVA TÉCNICA DE OBSERVACIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO Y DEL SOFTWARE DE GRADACIÓN Y CLASIFICACIÓN ASOCIADO".

Código Interno: 16/550-E

Investigador: Dr. José A. Gómez Pedrero

Versión Protocolo Evaluada: V. 1.0 de 29 de noviembre de 2016

Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: GENERAL / V. 1.1 de 29 de noviembre de 2016

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité informa favorablemente sobre la realización de dicho proyecto por el Dr. José A. Gómez Pedrero como investigador/a principal en la Facultad de Óptica y Optometría, Universidad Complutense de Madrid.

Lo que firmo en Madrid, a 21 de diciembre de 2016

Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIm Hospital Clínico San Carlos

**CERTIFICA**

Que el CEIm Hospital Clínico San Carlos en reunión de Comisión Permanente, acta 4.1/21, ha evaluado la respuesta a las aclaraciones solicitadas con anterioridad al estudio:

Título: "**VERIFICACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN DE GLÁNDULAS DE MEIBOMIO Y DEL SOFTWARE DE GRADACIÓN Y CLASIFICACIÓN ASOCIADO**".

Código Promotor: **DPI2016-75272-R**

Código Interno: **21/176-E**

Investigador: **JOSE ANTONIO GÓMEZ PEDRERO. Facultad de Óptica y Optometría de la U.C.M.**

Tipo Documento	Fecha - Versión
Hoja Información de Paciente	Vers. 3.0 de 26/03/2021
Protocolo	Vers. 3.0 de 26/03/2021

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto.

Lo que firmo en Madrid, a 31 de marzo de 2021

Fdo.: Dra. Mar García Arenillas  
Presidenta del CEIm Hospital Clínico San Carlos

## A.2 Consentimiento informado para los participantes del estudio

### CONSENTIMIENTO VOLUNTARIO DEL PARTICIPANTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: "Valoración al contraste de las glándulas de Meibomio en pacientes con disfunción de las glándulas de Meibomio"

INVESTIGADOR: Dra. Doña M<sup>a</sup> Asunción Peral Cerdá

#### IDENTIFICACIÓN DE LOS PACIENTES EN EL ESTUDIO

Apellidos (en letra de imprenta)	Nombre	Fecha de nacimiento
----------------------------------	--------	---------------------

1. El responsable del estudio me ha informado detalladamente de la naturaleza, el objetivo, los riesgos y la probable duración del estudio, así como de lo que se espera de mí. He tenido la oportunidad de hacerle preguntas sobre todos los aspectos del estudio y he comprendido las respuestas y la información que se me ha dado.
2. Yo, acepto participar voluntariamente en el estudio.
3. He comprendido que puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin tener que justificar mi decisión y sin que esto repercuta en modo alguno en la calidad de mis cuidados médicos.
4. Acepto que la persona que va a ser responsable de mí durante la duración del estudio utilice la información relativa a mis antecedentes médicos y a mis tratamientos, con el estricto respeto del secreto médico y del anonimato. Los datos personales de mi historia clínica seguirán siendo estrictamente confidenciales. Doy mi permiso para que sólo las personas autorizadas por el investigador y los representantes de las autoridades sanitarias consulten estos datos.
5. Estoy de acuerdo en seguir todas las instrucciones que se me den durante el estudio.
6. Estoy de acuerdo en cooperar plenamente con la Investigadora Dra. M<sup>a</sup> Asunción Peral Cerdá y en comunicarle inmediatamente a ella todos los cambios que se produzcan en mi salud o en mi bienestar, sean de la naturaleza que sean, y todos los síntomas inesperados o inusuales de cualquier tipo que puedan aparecer.
7. Estoy de acuerdo en no intentar restringir el uso de los resultados del estudio, y concretamente, acepto que estos resultados puedan revelarse a las autoridades sanitarias de todos los países respetando siempre la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales 15/1999.
8. Estoy de acuerdo en que el investigador, o alguien en representación de éste, pueda introducir en un ordenador los datos registrados durante el estudio. Comprendo perfectamente que el intermediario del médico que me está haciendo el seguimiento en este ensayo clínico pueda ejercer en cualquier momento el derecho de acceso previsto en la ley Orgánica de Protección de Datos Personales RD 15/1999. Puedo ejercer mi derecho a rectificar y/o a oponerme a través del intermediario de la Investigadora Dra M<sup>a</sup> Asunción Peral Cerdá
9. Puedo pedir información complementaria al Investigadora Dra. M<sup>a</sup> Asunción Peral Cerdá en cualquier momento. Durante todo el estudio y siempre que lo desee, recibiré información sobre los progresos del estudio. El investigador me dará cualquier información nueva relevante durante el estudio que pudiera modificar mi consentimiento.

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE (a rellenar por el paciente)

.....  
Apellidos (en letra de imprenta) Nombre

.....  
Fecha de la firma Firma precedida por la mención "leído y comprendido"

Y

Investigador Confirmo que he explicado al participante, arriba mencionado, la naturaleza, el objetivo y los posibles riesgos y beneficios del estudio arriba mencionado. El paciente se ha beneficiado de la oportunidad de examinar el procedimiento, incluido las alternativas, y tuvo la oportunidad de formular preguntas adicionales.

.....  
Apellidos (en letra de imprenta) Nombre

.....  
Fecha de la firma Firma

Una copia firmada de este formulario de consentimiento ha sido dada al paciente.

## FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### Apéndice a la Información y Consentimiento del Paciente

<b>PROMOTOR:</b>	Proyecto DPI2016-75272-R
<b>TÍTULO DEL ESTUDIO:</b>	Ensayo observacional de verificación de una nueva técnica de observación de glándulas de Meibomio y del software de gradación y clasificación asociado.
<b>CÓDIGO DEL ESTUDIO:</b>	EO4/DPI2016-75272-R
<b>INVESTIGADOR DEL ESTUDIO:</b>	José Antonio Gómez Pedrero
<b>Teléfono del investigador:</b>	91 394 69 03 / 91 394 68 58
<b>Número de paciente</b>	_____

Este estudio coincide en el tiempo con la pandemia de la enfermedad SARS-CoV-2 causada por el nuevo coronavirus COVID-19. Por ello, puede estar expuesto a riesgos adicionales asociados con una posible infección de COVID-19 y estos riesgos serán mayores debido a las visitas adicionales que se prevén dentro del estudio en comparación con su atención rutinaria, y a la imposibilidad del personal del estudio de mantener un distanciamiento social seguro durante alguno de los procedimientos de estudio. Puede haber interrupciones o retrasos en el estudio debido a restricciones de emergencia actuales o futuras relacionadas con la pandemia. Por ejemplo, alguna de las visitas programadas podría ser aplazada a fechas posteriores.

Los efectos potenciales del COVID-19 no se conocen completamente en este momento y pueden incluir problemas de salud graves a largo plazo, hospitalización y/o muerte. Según las directrices recientes de las autoridades de salud pública, el riesgo de enfermedad grave por COVID-19 aumenta con la edad y en personas con afecciones médicas subyacentes. Debido a ello se prevé la aplicación de un protocolo de seguridad específico para este estudio de acuerdo con las recomendaciones de las autoridades sanitarias y organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Sin embargo, es posible que estas medidas no eliminen por completo los riesgos asociados con la infección por COVID-19.

Las medidas contempladas en el protocolo de seguridad comprenden el uso de equipos de protección individual (mascarillas, guantes, etc.), higiene de manos, desinfección de equipos, mantenimiento de distancia social en cuanto sea posible y cualquiera otra que determinaran las autoridades sanitarias competentes. Estas medidas siempre se adecuarán a las establecidas por los centros donde se desarrolle el estudio. Agradecemos de antemano su colaboración para que este estudio se realice en las mejores condiciones de seguridad posible.

- He sido invitado a participar en un estudio observacional para la verificación de un sistema óptico de observación y toma de imágenes de glándulas de Meibomio y un software de gradación y clasificación de las mismas a partir de las imágenes obtenidas.
- He sido informado de que no hay riesgos apreciables en este estudio y de las posibles molestias que puede ocasionar el mismo que no superan las habituales en una batería de pruebas optométricas. También se me ha informado del protocolo del estudio que consiste en dos visitas en las cuales se me realizarán pruebas optométricas y toma de imágenes con el sistema óptico desarrollado en el estudio.
- Sé que obtendré como beneficio personal una evaluación gratuita de mi estado visual junto con la evaluación del estado de superficie anterior del ojo, párpados y valoración y/o diagnóstico de una posible patología relacionada con las glándulas de Meibomio o con ojo seco, si alguna de dichas patologías estuvieran presentes.
- Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y la dirección que se me ha facilitado de esa persona.
- He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me han contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado.
- Consiento voluntariamente participar en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin ninguna contrapartida y entiendo que se me entregará una copia de todas las páginas de este documento una vez firmado y fechado.

Nombre del Participante	
Fecha (Día/mes/año)	
Firma del Participante	

- He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador	
Fecha (Día/mes/año)	
Firma del Investigador	

- Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de Consentimiento Informado y del Formulario de Consentimiento que lo acompaña. \_\_\_\_\_ (iniciales del investigador/asistente)

### A.3 Cuaderno de recogida de datos

Nº C.R.D.: \_\_\_\_\_

<p style="text-align: center;"><b>CUADERNO DE REGOGIDA DE DATOS</b> <b>ESTUDIO MG_</b></p>
--

**VALORACIÓN Y MEDIDA DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO MEDIANTE DOS  
TÉCNICAS DE MEIBOGRAFÍA**

**Identificación del participante**

Numeración: |\_|\_|\_|\_|

Iniciales: \_\_\_\_\_

**Identificación del investigador**

\_\_\_\_\_

**Centro de realización**

Facultad de Óptica y Optometría UCM

I.P.: Assumpta Peral Cerdá  
I.C.: Elena Fernández Jiménez, Elena Diz Arias

## **PROCEDIMIENTO DE LA VISITA**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA DE VISITA

DEMOGRAFÍA

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

HISTORIA OCULAR Y SISTÉMICA

TRATAMIENTOS PREVIOS Y CONCOMITANTES OCULARES Y SISTÉMICOS

TEST DE SINTOMATOLOGÍA OCULAR

AGUDEZA VISUAL

ALTURA DEL MENSURADOR LAGRIMAL CON OCULUS KERATOGRAPH 5M

PATRÓN LIPÍDICO CON OCULUS KERATOGRAPH 5 M / TEARSCOPE

RECONOCIMIENTO DE LA SUPERFICIE OCULAR CON LÁMPARA DE HENDIDURA

RECONOCIMIENTO DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO CON LÁMPARA DE HENDIDURA

MEIBOGRAFÍA CON OCULUS KERATOGRAPH 5M

MEIBOGRAFÍA CON MEIBÓGRAFO DE NO CONTACTO CON LUZ BLANCA

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

Firma del consentimiento informado por parte del participante:

Si

No → STOP

Fecha de firma del consentimiento informado (DD/MM/AAAA): \_\_/\_\_/\_\_\_\_/

El consentimiento debe ser firmado antes de realizar cualquier procedimiento del estudio.

Fecha de Visita: \_\_/\_\_/\_\_\_\_/

## DEMOGRAFÍA

Fecha de nacimiento: \_\_/\_\_/\_\_\_\_/

Sexo:.....

Email:.....

Teléfono:.....

## CRITERIOS DE INCLUSIÓN / EXCLUSIÓN

1. Criterios de INCLUSIÓN	SI	NO
1. Hombres o mujeres mayores de 18 años.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Participantes que hayan dado el consentimiento informado por escrito en el que se explicará qué tipo de pruebas se les van a realizar.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Criterios de EXCLUSIÓN	SI	NO
<u>Afecciones/Enfermedades oculares</u>		
1. Antecedentes de cirugía palpebral.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Cualquier tipo de enfermedad ocular activa excepto ojo seco o alteraciones relacionadas con las glándulas de Meibomio (DGM y Blefaritis), que requiera o no tratamiento tópico ocular.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Antecedentes de traumatismo, infección, inflamación ocular en los últimos 3 meses.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Desorden en el canal naso-lagrimal.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<u>Tratamientos oculares y sistémicos</u>		
1. Participantes con cualquier tipo de medicación ocular (tratamientos antiinflamatorios, antibióticos, etc.) excepto lágrima artificial en los últimos 30 días previos a la visita de selección.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Participantes con tratamientos corticoesteroides, sistémicos o inmunosupresores en los últimos 3 meses previos a la visita de selección.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Participantes con tratamientos de opioides o morfínicos sistémicos en los últimos 3 meses previos a la visita de selección.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Todos los tratamientos citados anteriormente estarán también prohibidos durante el desarrollo del estudio.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## GRUPO DE ESTUDIO

CONTROL     DGM /BLEFARITIS     USUARIO DE LC → CLDEQ-8\*

### HISTORIA OCULAR Y SISTÉMICA

Si → Completar tabla

No → Siguiente

N°	Historia	Descripción
1	Diagnosis: ..... ..... ..... .....	Fecha de Primera diagnosis:  _ _  /  _ _  /  _ _ _ _  ..... Evolución, Aún presente      Stop < 1 año      Stop > 1 año ..... Tratamiento médico en la actualidad: No                      Sí
	En caso de implicación ocular: Ojo derecho Ojo izquierdo	Procedimiento quirúrgico:      No                      Sí, especificar: ..... Fecha:  _ _  /  _ _  /  _ _ _ _
2	Diagnosis: ..... ..... ..... .....	Fecha de primera diagnosis:  _ _  /  _ _  /  _ _ _ _  ..... Evolución, Aún presente      Stop < 1 año      Stop > 1 año ..... Tratamiento médico en la actualidad: No                      Sí
	En caso de implicación ocular: Ojo derecho Ojo izquierdo	Procedimiento quirúrgico:      No                      Sí, especificar: ..... Fecha:  _ _  /  _ _  /  _ _ _ _

### MEDICACIÓN PREVIA CONCOMITANTE OCULAR Y SISTÉMICA

	Nombre comercial	Indicación	Diana farmacológica	Dosis	P	Fecha inicio	Fecha fin	R
1			OD OI NA			__/__/____	__/__/____	en curso
2			OD OI NA			__/__/____	__/__/____	en curso

P: Posología: (1) por días, (2) Por semana, (3) Por mes, (4) Según requerimiento.  
R: Ruta: (1) Oral, (2) Tópica, (3) Inyectable, (4) Transdérmica, (5) Rectal, (6) Otra.

**TEST DE SINTOMATOLOGÍA**

**1. TEST DE OSDI**

¿Ha experimentado alguno de los siguientes síntomas durante la última semana?

	Siempre	Casi siempre	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca
1. Ojos sensibles a la luz	4	3	2	1	0
2. Sensación de tener arena en los ojos	4	3	2	1	0
3. Ojos doloridos (dolor/escozor)	4	3	2	1	0
4. Visión borrosa	4	3	2	1	0
5. Mala visión	4	3	2	1	0

Puntuación subtotal de las preguntas 1-5 (A): .....

¿Los problemas con sus ojos le han limitado realizar alguna de las siguientes acciones durante la última semana?

	Siempre	Casi siempre	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca	No sabe/No contesta (NS/NC)
6. Leer	4	3	2	1	0	NS/NC
7. Conducir de noche	4	3	2	1	0	NS/NC
8. Trabajar con un ordenador	4	3	2	1	0	NS/NC
9. Ver la televisión	4	3	2	1	0	NS/NC

Puntuación subtotal de las preguntas 6-9 (B): .....

¿Ha sentido molestias en los ojos en alguna de las siguientes situaciones durante la última semana?

	Siempre	Casi siempre	La mitad del tiempo	Algunas veces	Nunca	No sabe/No contesta (NS/NC)
10. Viento	4	3	2	1	0	NS/NC
11. Lugares o áreas de humedad baja (muy secos)	4	3	2	1	0	NS/NC
12. Zonas con aire acondicionado	4	3	2	1	0	NS/NC

Puntuación subtotal de las preguntas 10-12 (C): .....

**SEÑALE CON UNA X EL OJO QUE PRESENTA MAS SÍNTOMAS:**

OJO DERECHO.....OJO IZQUIERDO.....AMBOS OJOS.....

**SUMA SUBTOTALES (A+B+C) = (D) :** .....

**TOTAL PREGUNTAS CONTESTADAS (SIN NS/NC) (E):** .....

OSDI = (sumatorio de puntuaciones) x 25/ (número de preguntas contestadas) =
--

### 3. ESCALA VISUAL ANALÓGICA (VAS)

Hacer un trazo perpendicular sobre la línea que va del 0 al 10 para determinar el grado de la sintomatología.

SINTOMAS	GRADO
FATIGA OCULAR SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
LAGRIMED (DESCARGA) SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
SENSACION DE CUERPO EXTRAÑO SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
SEQUEDAD SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
SENSACION DE MOLESTIA SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
SENSACION DE OJOS PEGAJOSOS SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
DOLOR SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
EPIFORA (LAGRIMED) SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
HORMIGUEO O PICAZÓN SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
ENROJECIMIENTO SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
SENSACION DE PESADEZ OCULAR SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
DESUMBRAMIENTO SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----
PARPADEO EXCESIVO SI - NO - A VECES	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  -----

HISTORIA DE CHALACIÓN Y ORZUELO: SI  OJO:..... REPETICIÓN:..... // NO

LOS SÍNTOMAS ANTERIORES APARECEN: AL LEVANTARTE:  AL FINAL DEL DÍA:

OJO QUE PRESENTA MÁS SÍNTOMAS: OD:  OI:  AMBOS:

#### **4. 5-ITEM DRY EYE QUESTIONNAIRE (DEQ-5)**

1. Preguntas sobre MOLESTIAS OCULARES:

- a) Durante un día típico en el último mes, ¿con qué frecuencia sintió molestias en sus ojos ?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

- b) Si ha sentido molestias en sus ojos, ¿con qué grado de intensidad sintió tales molestias al final del día, en las dos horas previas a irse a dormir?

0	1	2	3	4	5
Ausencia de molestias	Nada intensas				Muy intensas

2. Preguntas acerca de SEQUEDAD OCULAR:

- a) Durante un día típico en el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido sus ojos secos?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

- b) Cuando sintió sus ojos secos, ¿qué grado de intensidad tenía la sensación de sequedad al final del día, en las dos horas previas a irse a dormir?

0	1	2	3	4	5
Ausencia de sequedad	Nada intensa				Muy intensa

3. Preguntas sobre OJOS LLOROSOS:

- a) Durante un día típico en el último mes, ¿con qué frecuencia sintió sus ojos excesivamente llorosos?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

**Puntuación: 1a+1b+2a+2b+3= Total // Total=\_\_\_\_\_**

\* (Ojo seco  $\geq$  6)

## **5. CONTACT LENS DRY EYE QUESTIONER-8 (CLDEQ-8)\***

### 1. Preguntas sobre MOLESTIAS OCULARES:

- a) Durante un día típico en las últimas dos semanas, ¿con qué frecuencia sintió molestias en sus ojos al usar las lentes de contacto?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

- b) Si ha sentido molestias en sus ojos usando las lentes de contacto, ¿cómo de intensas sintió tales molestias al final del día?

0	1	2	3	4	5
Ausencia de molestias					Muy intensas

### 2. Preguntas acerca de SEQUEDAD OCULAR:

- a) Durante un día típico en las últimas dos semanas, ¿con qué frecuencia ha sentido sus ojos reseco?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

- b) Cuando sintió sus ojos secos, ¿de qué intensidad era la sensación de sequedad, al dejar de usar las lentes de contacto al final del día?

0	1	2	3	4	5
Ausencia de sequedad					Muy intensa

### 3. Preguntas sobre VISIÓN BORROSA Y FLUCTUANTE:

- a) Durante un día típico en las últimas dos semanas, ¿con qué frecuencia cambió su visión entre clara, borrosa o nublada, mientras usaba sus lentes de contacto?

0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

- b) Cuando tenía visión borrosa, ¿cuánto le afectaba esa sensación al terminar el uso de sus lentes de contacto al terminar el día?

0	1	2	3	4	5
Ausencia de borrosidad					Muy intensa

1. Pregunta acerca de CERRAR LOS OJOS:
  - a) Durante un día típico en las últimas dos semanas, ¿con qué frecuencia le molestaban sus ojos tanto que sintió la necesidad de cerrarlos?  
  
0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente
  
2. Pregunta sobre QUITARSE LAS LENTES DE CONTACTO:
  - a) ¿Con qué frecuencia durante las últimas dos semanas, le molestaron sus lentes de contacto tanto que dejó de hacer lo que estaba haciendo y se las quitó?  
  
0 Nunca  
1 Rara vez  
2 Alguna vez  
3 Frecuentemente  
4 Constantemente

**Puntuación Total=\_\_\_\_\_**

**AGUDEZA VISUAL**

OD: .....

OI: .....

**ALTURA MENISCO LAGRIMAL OCULUS KERATOGRAPH 5M**

OD: .....

OI: .....

**PATRÓN LIPÍDICO CON OCULUS KERATOGRAPH 5M / TEARSCOPE**

OD: ..... // OD: .....

OI: ..... // OI: .....

**EXAMEN CON LÁMPARA DE HENDIDURA****1.MORFOLOGÍA PALPEBRAL**

			SI	NO	Observaciones
<b>MARGEN</b>	<b>Irregularidad (Inflamación)</b>	OD PS			
		OD PI			
	<b>Central Nasal Temporal</b>	OI PS			
		OI PI			
	<b>Vascularización (Enrojecimiento, telangiectasia)</b>	OD PS			
		OD PI			
	<b>Central Nasal Temporal</b>	OI PS			
		OI PI			
<b>ORIFICIOS</b>	<b>Visibles</b>	OD PS			
		OD PI			
		OI PS			
		OI PI			
	<b>Taponamientos (Número)</b>	OD PS			
		OD PI			
		OI PS			
		OI PI			

ENROJECIMIENTO CONJUNTIVAL	OD	GRADO
	OI	GRADO
ENROJECIMIENTO LIMBAR	OD	GRADO
	OI	GRADO

-Escala CCLRU-

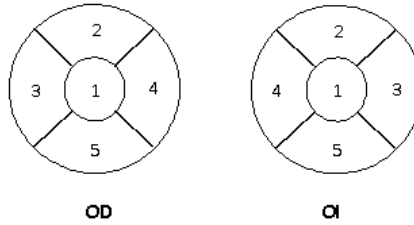
**2.BUT**

OD : ..... MEDIA: .....

OI : ..... MEDIA: .....

**3.TINCIONES CORNEALES**

CUADRANTE CORNEAL (TINCIÓN CON FLUORESCÉINA)

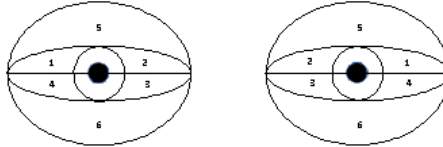


REGIÓN		OD					OI				
Central	1	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Superior	2	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Temporal	3	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Nasal	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Inferior	5	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4

Escala CCLRU 0: Ausencia de punteado; 1: Micropunteado; 2: Macropunteado; 3: Macropunteado coa lescente; 4: Parche

**4. TINCIONES CONJUNTIVALES**

**CUADRANTE CONJUNTIVAL (TINCIÓN CON VERDE DE LISAMINA)**



Región	Conjuntiva OD				Conjuntiva OI			
1	0	1	2	3	0	1	2	3
2	0	1	2	3	0	1	2	3
3	0	1	2	3	0	1	2	3
4	0	1	2	3	0	1	2	3
5	0	1	2	3	0	1	2	3
6	0	1	2	3	0	1	2	3

Escala descrita por Kemp, divide la conjuntiva en 6 regiones.

**5. EVALUACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO**

EXPRESION TRAS PRESION	Leve	Moderada	Fuerte	No hay
OD PS				
OD PI				
OI PS				
OI PI				

CALIDAD MEIBUM	Clara	Turbia	Granular	Pasta	No hay	Espuma
OD PS						
OD PI						
OI PS						
OI PI						

	ENROJECIMIENTO PALPEBRAL (Grado)	RUGOSIDAD PALPEBRAL (Grado)
OD PS		
OD PI		
OI PS		
OI PI		

**MEIBOGRAFÍA CON K5M**

MEIBOSCORE	PS	PI
OD		
OI		

Observaciones:.....

**MEIBOGRAFÍA CON VISMEIB**

MEIBOSCORE	PS	PI
OD		
OI		

Observaciones:.....

Fecha Fin: \_\_/\_\_/\_\_

Firma investigador:

## A.4 Escalas de gradación utilizadas para valorar y cuantificar los signos clínicos

Escalas de gradación utilizadas para la cuantificación de los signos clínicos	
Test clínicos	Escalas de gradación
Agudeza visual	ETDRS (LogMar)
Altura del menisco lagrimal	Milímetros
Tiempo de rotura lagrimal (TBUT)	Segundos
Tinciones corneales (0-15) (Dividida en 5 regiones)	0: No tinción 1: Leve 2: Moderada 3: Severa
Enrojecimiento conjuntival	0: Normal 1: Leve 2: Medio 3: Moderado 4: Severo
Enrojecimiento limbar	0: Normal 1: Leve 2: Medio 3: Moderado 4: Severo
Enrojecimiento palpebral	0: Normal 1: Leve 2: Medio 3: Moderado 4: Severo
Tinción conjuntival (0-18) (Dividida en 6 regiones)	0: No tinción 1: Leve 2: Moderada 3: Severa
Irregularidad del margen palpebral	0: No irregularidad 1: Irregularidad en uno de los párpados 2: Irregularidad en ambos párpados
Vascularización palpebral (telangiectasias)	0: No telangiectasia 1: Telangiectasia en un párpado 2: Telangiectasias en ambos párpados
Taponamientos glandulare	0: No taponamientos 1: Taponamientos en un párpado 2: Taponamientos en ambos párpados
Calidad del meibum (Evaluado en las 8 glándulas centrales en ambos párpados)	0: Clara 1: Turbia 2: Granulada 3: Densa 4: No hay secreción
Expresión de meibum(Fuerza ejercida sobre el párpado para observar expresión glandular)	0: Suave 1: Moderada 2: Fuerte 3: No hay expresión

## **A.5 Asistencia a congresos en los que se han expuesto temas en relación con esta tesis doctoral**

- Evaluación de las glándulas de Meibomio con dos tipos de meibografías. Póster Phday 2019 Facultad de óptica y optometría UCM. Madrid España. Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; José Antonio Gómez Pedrero; María Asunción Peral Cerdá

- Clasificación automática de las glándulas de Meibomio. Contribución oral. OPTOM 21 (Congreso internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica). Madrid España. Elena Diz Arias; Elena Fernández Jiménez; María Asunción Peral Cerdá; José Antonio Gómez Pedrero.

-Evaluación de las Glándulas de Meibomio a través de dos tipos de meibografías. Póster OPTOM 21. (Congreso internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica). Madrid España. Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; María Asunción Peral Cerdá; José Antonio Gómez Pedrero.

-Classification of Meibomian gland disease with machine learning techniques. Póster. ARVO 2023 Annual Meeting. New Orleans, EEUU. María Asunción Peral Cerdá; Elena Diz Arias; Elena Fernández Jiménez; José Antonio Gómez Pedrero.

-Estudio de las propiedades ópticas de las glándulas de meibomio. Contribución oral. Concurso “Tesis en tres minutos” 2023. Madrid, España. Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; María Asunción Peral Cerdá; José Antonio Gómez Pedrero.

-Contrast study of the Meibomian glands. Póster Phday 2023 Facultad de óptica y optometría UCM. Madrid España. Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; José Antonio Gómez Pedrero; María Asunción Peral Cerdá.

-Variation of Meibomian glands contrast throughout the day. Póster. ARVO 2024 Annual Meeting. Seattle, EEUU. María Asunción Peral Cerdá; Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; José Antonio Gómez Pedrero.

- Técnicas de machine learning aplicadas al diagnóstico de patologías relacionadas con las glándulas de meibomio a partir de indicadores clínicos. Póster OPTOM 2024. (Congreso internacional de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica). Madrid España. Elena Diz Arias; Elena Fernández Jiménez; María Asunción Peral Cerdá; José Antonio Gómez Pedrero.

- Variación del contraste de las glándulas de Meibomio a lo largo del día. Póster AECSO 2024. Facultad de óptica y optometría UCM, Madrid, España. Elena Fernández Jiménez; Elena Diz Arias; José Antonio Gómez Pedrero; María Asunción Peral Cerdá.

## **A.6 Artículos y patentes publicados relacionados con la tesis doctoral y registro de la propiedad intelectual/ patente**

1. Diz-Arias E, Fernández-Jiménez E, Peral A, Gomez-Pedrero JA. A Comparative Study of Two Imaging Techniques of Meibomian Glands. *Life*. 2023;13(3):791. DOI
2. Diz-Arias E, Fernández-Jiménez E, Peral A, Gomez-Pedrero JA. Role of instrumental factors in Meibomian gland contrast assessment. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2023;43:1050-8
3. Diz-Arias E, Fernandez-Jimenez E, Peral A, Gomez-Pedrero JA. Code for computing Meibomian gland contrast. GitHub. <https://github.com/InforUCM/ContrasteMG>. [Internet]. 2022. Accessed 24 April 2023.
4. Gómez-Pedrero JA, Peral A, Fernández-Jiménez E, Diz-Arias E. MobileMeibograph: Aplicación móvil para la visualización y análisis de glándulas de Meibomio. N° de asiento registral 16/2021/4246.
5. Fernández-Jiménez E, Diz-Arias E, Gómez-Pedrero JA, Peral A. Machine learning techniques in the diagnosis of meibomian glands related alterations from clinical indicators. *Contact Lens and Anterior Eye*. Submitted for publication. December 2024.

### **Otros artículos**

Fernández-Jimenez E, Diz-Arias E, Peral A. Improving ocular surface comfort in contact lens wearers. *Contact Lens Anterior Eye*. 2022;45(3):101544.



REGISTRO TERRITORIAL  
DE LA PROPIEDAD  
INTELLECTUAL



MINISTERIO  
DE CULTURA  
Y DEPORTE

## REGISTRO GENERAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL

Según lo dispuesto en la Ley de Propiedad Intelectual (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril), quedan inscritos en este Registro los derechos de propiedad intelectual en la forma que se determina seguidamente:

### NÚMERO DE ASIENTO REGISTRAL 16 / 2021 / 4274

**Título:** MobileMeibograph. Aplicación móvil para la visualización y análisis de glándulas de Meibomio

**Objeto de propiedad intelectual:** Programa de ordenador

**Clase de obra:** Programa de ordenador

### PRIMERA INSCRIPCIÓN

#### ***Autor/es y titular/es originarios de derechos***

- **Apellidos y nombre:** GÓMEZ PEDRERO, José Antonio  
**Nacionalidad:** España **D.N.I./N.I.F./Pasaporte:** 08943126J  
**% sobre derechos de explotación:** 40
- **Apellidos y nombre:** FERNÁNDEZ JIMÉNEZ, Elena  
**Nacionalidad:** España **D.N.I./N.I.F./Pasaporte:** 50546452L  
**% sobre derechos de explotación:** 15
- **Apellidos y nombre:** PERAL CERDÁ, Assumpta  
**Nacionalidad:** España **D.N.I./N.I.F./Pasaporte:** 22002395C  
**% sobre derechos de explotación:** 30
- **Apellidos y nombre:** DIZ ARIAS, Elena  
**Nacionalidad:** España **D.N.I./N.I.F./Pasaporte:** 76731453A  
**% sobre derechos de explotación:** 15

#### ***Transmisión de derechos***

- **Titular cesionario:** UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
**Nacionalidad:** España **D.N.I./N.I.F./Pasaporte:** Q2818014I

Titular/es cesionario/s por transmisión intervivos de los derechos de explotación en la naturaleza y condiciones que se expresan a continuación:

**Derechos cedidos:** Reproducción, distribución, comunicación pública y transformación

**Modalidades cedidas:** Cualquiera de las conocidas a la fecha del contrato

(Continúa la inscripción)



La autenticidad de este documento se puede comprobar en [www.madrid.org/csv](http://www.madrid.org/csv) mediante el siguiente código seguro de verificación: 1037066459311288283471

16/2021/4274

## A.7 Resultados capítulo 3:

### ESTUDIO DE LOS CONTRASTES DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO:

<i>Test Clínicos</i>	<i>Control (n = 20) Media ± SD</i>	<i>Patología (n = 20) Media ± SD</i>	<i>p-Valor</i>
<i>Sexo Hombre /Mujer</i>	2/18	8/12	<b>0.03*</b>
<i>Edad</i>	27.9 ± 2.2	37.3 ± 14.5	>0.05
<i>OSDI (0-100)</i>	8.6 ± 3.7	32.5 ± 18.3	<b>&lt;0.001*</b>
<b>VAS (0-100)</b>			
<i>Dolor</i>	6.9 ± 15.6	7.2 ± 15.0	<b>0.03*</b>
<i>Sequedad</i>	25.3 ± 27.6	44.3 ± 32.6	>0.05
<i>Irritación</i>	13.0 ± 23.8	36.0 ± 27.8	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Ardor</i>	11.0 ± 27.4	21.4 ± 26.3	<b>0.03*</b>
<i>Picor</i>	18.2 ± 25.4	27.7 ± 29.3	>0.05
<i>Fotofobia</i>	15.2 ± 22.9	39.4 ± 23.8	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Sensación de cuerpo extraño</i>	13.5 ± 19.0	26.8 ± 31.7	>0.05
<i>Agudeza Visual</i>	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.1	>0.05
<i>Menisco</i>	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	>0.05
<i>TBUT</i>	5.2 ± 1.8	4.0 ± 1.8	<b>0.04*</b>
<i>Tinciones corneales (0-15)</i>	0.8 ± 0.8	1.2 ± 2.3	>0.05
<i>Tinciones conjuntivales (0-18)</i>	2.0 ± 1.9	4.7 ± 4.1	<b>0.04*</b>
<i>Irregularidad del margen palpebral (0-2)</i>	0.6 ± 0.5	1.1 ± 0.7	<b>0.03*</b>
<i>Telangiectasias (0-2)</i>	0.6 ± 0.5	1.5 ± 0.5	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Calidad del meibum (0-4)</i>	0.1 ± 0.2	0.6 ± 0.7	<b>0.02*</b>
<i>Expresión de meibum (0-3)</i>	0.4 ± 0.5	0.7 ± 0.7	>0.05
<i>Meiboscore (0-4)</i>	0.6 ± 0.5	2.0 ± 0.9	<b>&lt;0.001*</b>
<i>*Diferencias estadísticamente significativas.</i>			

Tabla: resultados de los datos demográficos, los test de sintomatología y clínicos realizados al grupo control y con patología. Y su comparación entre ambos grupos con los *p*- valores obtenidos.

**ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DEL FILTRO DENTRO DEL ESPECTRO VISIBLE QUE MEJOR CONTRASTE APORTA PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GLÁNDULAS DE MEIBOMIO:**

<b>Test de sintomatología OSDI (0-100)</b>		
<b>CONTROL (n=19)</b>	<b>PATOLOGÍA (n =17)</b>	<b>p- valor</b>
<b>Media ± SD</b>	<b>Media ± SD</b>	
9,4±1,8	22,8±4,5	<b>0,007*</b>
SD (desviación estándar)		
*Diferencias estadísticamente significativas		

**Tabla: resultados del test de sintomatología OSDI en sujetos control y con patología de las GM junto con el p-valor.**

<b>Test de sintomatología VAS (0-100)</b>			
	<b>CONTROL (n=19)</b>	<b>PATOLOGÍA (n =17)</b>	<b>p- valor</b>
	<b>Media ± SD</b>	<b>Media ± SD</b>	
<i>Dolor</i>	3.6 ±1.6	8.2±3.3	>0.05
<i>Sequedad</i>	18.1±4.6	39.9±6.8	<b>0.01*</b>
<i>Irritación</i>	9.4±3.8	26.3±4.9	<b>0.01*</b>
<i>Ardor</i>	6.0±3.8	17.1±4.6	<b>0.04*</b>
<i>Picor</i>	14.1±4.2	29.6±6.4	<b>0.04*</b>
<i>Fotofobia</i>	8.1±2.7	26.4±6.7	<b>0.01*</b>
<i>Sens. Cuerpo extraño</i>	9.1±3.6	21.9±6.5	>0.05
SD (desviación estándar)			
*Diferencias estadísticamente significativas			

**Tabla : resultados del test de sintomatología VAS en sujetos control y con patología de las GM para cada uno de los síntomas, junto con el p-valor.**

<i>Pruebas clínicas</i>			
	<i>CONTROL (n=19)</i>	<i>PATOLOGÍA (n =17)</i>	<i>p- valor</i>
	<i>Media ± SD</i>	<i>Media ± SD</i>	
<i>AV (LogMAR)</i>	-0.0±0.1	0.0±0.1	>0.05
<i>Menisco (mm)</i>	0.3±0.0	0.2±0.0	>0.05
<i>BUT (s)</i>	6.3±0.5	3.7±0.2	<b>0.002*</b>
<i>Tinciones corneales (0-15)</i>	0.1±0.4	0.2±0.6	>0.05
<i>Tinciones conjuntivales (0-18)</i>	0.4±0.7	0.6±1.1	>0.05
<i>Irregularidad palpebral (0-2)</i>	0.1±0.3	0.5±0.5	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Telangiectasias (0-2)</i>	0.2±0.4	0.5±0.5	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Taponamientos (0-2)</i>	0.1±0.2	0.4±0.5	<b>&lt;0.001*</b>
<i>Calidad del meibum (0-4)</i>	0.0±0.0	0.3±0.8	<b>0.004*</b>
<i>Expresión del meibum (0-3)</i>	0.2±0.4	0.5±0.7	<b>0.01*</b>
<i>SD (desviación estándar)</i>			
<i>*Diferencias estadísticamente significativas</i>			

**Tabla: resultados de las pruebas clínicas realizadas en el estudio en sujetos control y con patología de las GM junto con el p-valor.**

		CIN	SEM	CCI	CIN TER	SEM	CCI	RLG	SEM	CCI	RGA	SEM	CCI
CONTROL	610_PI	0.021	0.001	0.798	0.051	0.003	0.811	0.142	0.008	0.358	0.122	0.017	0.681
CONTROL	630_PI	0.021	0.002	0.835	0.051	0.004	0.684	0.160	0.013	0.343	0.162	0.028	0.404
CONTROL	645_PI	0.019	0.001	0.734	0.045	0.003	0.674	0.156	0.011	0.446	0.138	0.022	0.590
CONTROL	665_PI	0.019	0.001	0.816	0.047	0.003	0.691	0.152	0.011	0.608	0.141	0.030	0.765
CONTROL	610_PS	0.016	0.001	0.867	0.038	0.003	0.746	0.105	0.008	0.692	0.076	0.011	0.705
CONTROL	630_PS	0.016	0.001	0.647	0.033	0.003	0.818	0.104	0.008	0.524	0.076	0.011	0.481
CONTROL	645_PS	0.013	0.001	0.614	0.033	0.002	0.839	0.102	0.006	0.521	0.066	0.005	0.607
CONTROL	665_PS	0.013	0.000	0.495	0.033	0.001	0.741	0.097	0.004	0.326	0.062	0.003	0.234
PATOLOGIA	610_PI	0.02	0.001	0.775	0.043	0.003	0.737	0.166	0.019	0.552	0.149	0.015	0.397
PATOLOGIA	630_PI	0.018	0.002	0.931	0.041	0.003	0.871	0.153	0.010	0.393	0.146	0.022	0.496
PATOLOGIA	645_PI	0.017	0.001	0.881	0.039	0.003	0.657	0.156	0.018	0.540	0.165	0.032	0.520
PATOLOGIA	665_PI	0.016	0.001	0.892	0.038	0.003	0.929	0.157	0.017	0.526	0.153	0.025	0.775
PATOLOGIA	610_PS	0.013	0.001	0.857	0.033	0.002	0.824	0.126	0.015	0.599	0.085	0.013	0.646
PATOLOGIA	630_PS	0.012	0.001	0.807	0.032	0.002	0.904	0.131	0.013	0.540	0.079	0.008	0.521
PATOLOGIA	645_PS	0.013	0.001	0.751	0.033	0.007	0.886	0.135	0.019	0.894	0.090	0.017	0.944
PATOLOGIA	665_PS	0.012	0.001	0.777	0.030	0.001	0.778	0.126	0.017	0.770	0.077	0.011	0.833

**Tabla: valores medios de CIN, CINTER, RLG y RGA con el error estándar de la media y su CCI para párpado superior e inferior para los dos grupos del estudio y para cada filtro.**

		CINTER	SEM	ANOVA p-valor
<i>Control</i>	610_PS	0.038	0.003	0.278
	630_PS	0.033	0.003	
	645_PS	0.033	0.002	
	665_PS	0.033	0.001	
<i>Control</i>	610_PI	0.051	0.003	0.123
	630_PI	0.051	0.004	
	645_PI	0.045	0.003	
	665_PI	0.047	0.003	
<i>Patología</i>	610_PS	0.033	0.002	0.405
	630_PS	0.032	0.002	
	645_PS	0.033	0.002	
	665_PS	0.030	0.001	
<i>Patología</i>	610_PI	0.043	0.003	0.318
	630_PI	0.041	0.003	
	645_PI	0.039	0.003	
	665_PI	0.038	0.003	

**Tabla: comparación de los valores medios de CINTER con el error estándar de la media y *p*- valor para determinación del mejor filtro para la observación de las GM.**

	Filtro	CIN	CINTER	RLG	RGA
<b>Control</b>	610	0.007*	0.004*	0.004*	0.04*
	630	0.02*	0.006*	0.001*	0.01*
	645	0.00*	0.00*	0.001*	0.007*
	665	0.00*	0.00*	0.00*	0.02*
<b>Patología</b>	610	0.002*	0.02*	0.11	0.005*
	630	0.009*	0.02*	0.17	0.003*
	645	0.02*	0.08	0.47	0.68
	665	0.004*	0.01*	0.22	0.002*

*\*Diferencias estadísticamente significativas*

**Tabla: comparaciones entre párpado superior e inferior para CIN, CINTER, RLG Y RGA (P-valores).**

	Filtro	CIN	CINTER	RLG	RGA
<b>CONTROL/PATOLOGÍA PS</b>	610	0.20	0.18	0.28	0.60
	630	0.06	0.14	0.67	0.85
	645	0.97	0.73	0.95	0.17
	665	0.40	0.19	0.92	0.19
<b>CONTROL/PATOLOGÍA PI</b>	610	0.39	0.04*	0.28	0.29
	630	0.13	0.05	0.67	0.68
	645	0.35	0.11	0.95	0.55
	665	0.08	0.01*	0.92	0.82

*\*Diferencias estadísticamente significativas*

**Tabla: Comparaciones entre grupo control y patología para CIN, CINTER, RLG Y RGA (P-valores).**

**ESTUDIO PARA LA VALIDACIÓN DEL FILTRO DE 610 NM POR  
COMPARACIÓN CON LAS IMÁGENES OBTENIDAS POR EL K5M**

<b>PRUEBAS CLÍNICAS</b>			
	<i>Control (n=10)</i>	<i>Patología (n=10)</i>	<i>p- valor</i>
	<i>media ± SD</i>	<i>media ± SD</i>	
<b>OSDI</b>	6.9 ± 5.2	36.3 ± 15.0	<b>&lt;0.001*</b>
<b>VAS</b>			
<b>Dolor</b>	0.2±0.6	3.9±5.9	<b>0.05*</b>
<b>Sequedad</b>	1.2±1.2	42.8±26.1	<b>&lt;0.001*</b>
<b>Irritación</b>	0.3±0.7	35.8±27.6	<b>&lt;0.001*</b>
<b>Ardor</b>	0.1±0.3	14.2±19.1	<b>&lt;0.001*</b>
<b>Picor</b>	0.8±1.2	26.5±25.3	<b>0.01*</b>
<b>Fotofobia</b>	0.6±1.0	37.7±27.4	<b>&lt;0.001*</b>
<b>Sens. Cuerpo extraño</b>	0.5±0.7	27.5±23.6	<b>0.01*</b>
<b>AV</b>	-0.0±0.1	0.0±0.1	>0.05
<b>Menisco</b>	0.3±0.1	0.2±0.1	>0.05
<b>TBUT</b>	6.3 ± 2.2	3.5 ± 1.6	<b>0.01 *</b>
<b>Tinciones corneales (0-15)</b>	0.4 ± 0.7	0.6 ± 0.7	>0.05
<b>Tinciones bulbares (0-18)</b>	0.2 ± 0.4	4.4 ± 3.7	<b>&lt;0.001 *</b>
<b>Irregularidad margen palpebral (0-2)</b>	0.1 ± 0.3	1.1 ± 0.7	<b>&lt;0.001 *</b>
<b>Telangiectasias (0-2)</b>	0.4 ± 0.7	1.6 ± 0.5	<b>&lt;0.001 *</b>
<b>Obstrucción (0-2)</b>	0.2 ± 0.6	0.4 ± 0.5	>0.05
<b>Calidad del meibum (0-4)</b>	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.5	>0.05
<b>Expresión de las GM (0-3)</b>	0.2 ± 0.4	0.6 ± 1.0	>0.05

**Tabla: resultados clínicos para el grupo control y patología. Los datos representan la media junto con su desviación estándar y el p-valor para las diferencias entre grupos.**