

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Sania Vidas Pauk**

**Procjena debljine lipidnoga sloja  
mjeranjem pucanja suznoga filma  
ručnim instrumentom**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Sania Vidas Pauk**

**Procjena debljine lipidnoga sloja  
mjeranjem pucanja suznoga filma  
ručnim instrumentom**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2019.**

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

Voditelj rada: prof. dr. sc. Tomislav Jukić

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Tomislavu Jukiću na stručnom mentorstvu, mnogobrojnim stručnim savjetima, poticajima i ohrabrenju tijekom izrade ovoga rada. Također, zahvalna sam dr. sc. Martini Tomić na pomoći u statističkoj obradi rezultata, njihovu tumačenju i tehničkoj obradi rada. Bez zadržke beskrajno zahvaljujem svim svojim suradnicama s Klinike za očne bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu Kliničkog bolničkog centra Zagreb.*

*I na kraju, posebnu zahvalu upućujem svojem suprugu, kćeri i roditeljima na velikom strpljenju i podršci u mojem profesionalnom napredovanju. Bez njih ovaj rad nikada ne bi ugledao svjetlo dana.*

# SADRŽAJ:

<b>1. UVOD I SVRHA RADA</b> .....	1
1.1. Suzni film .....	2
1.1.1. Uloga suznog filma u zdravlju oka i kvaliteti vida .....	2
1.1.2. Anatomija i fiziologija suznog filma .....	3
1.1.2.1. Distribucija suza na površini oka .....	3
1.1.2.2. Struktura preokularnog suznog filma .....	4
1.1.2.2.1. Lipidni sloj .....	5
1.1.2.2.2. Mukozno-vodeni sloj .....	7
1.1.2.3. Stabilnost suznog filma .....	10
1.1.2.4. Osmolarnost suznog filma .....	12
1.1.2.5. Kristalizacija suznog filma .....	12
1.1.2.6. pH suza .....	13
1.1.2.7. Evaporacija suza .....	13
1.1.3. Dinamika suza .....	14
1.1.3.1. Sekrecija suza .....	14
1.1.3.2. Ekskrecija suza .....	14
1.2. Bolest suhog oka .....	15
1.2.1. Definicija bolesti suhog oka .....	16
1.2.2. Podjela bolesti suhog oka .....	18
1.2.2.1. Hiperevaporativno suho oko .....	18
1.2.2.2. Hiposekrecijsko suho oko .....	19
1.2.3. Patologija bolesti suhog oka .....	20
1.2.4. Prevalencija i incidencija bolesti suhog oka .....	20
1.3. Dijagnostika bolesti suhog oka .....	22
1.3.1. Anamneza .....	23
1.3.2. Upitnici .....	24
1.3.3. Funkcionalni testovi .....	25
1.3.3.1. Uloga suznog filma u vidnoj funkciji .....	25
1.3.3.2. Mjerenje funkcionalne vidne oštine .....	26
1.3.4. Pregled vjeđa .....	27
1.3.4.1. Pregled ruba vjeđe .....	28

1.3.4.2. Ekspresija Meibomovih žlijezda .....	28
1.3.4.3. Meibografija .....	28
1.3.4.4. Meibometrija .....	29
1.3.5. Pregled struktura očne površine .....	29
1.3.5.1. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe .....	29
1.3.5.2. Bojenje vitalnim bojama .....	30
1.3.5.3. Metode procjene upale očne površine .....	31
1.3.5.3.1. Hiperemija spojnice .....	31
1.3.5.3.2. Biomarkeri upale .....	32
1.3.6. Pregled suznog filma: procjena volumena suza .....	32
1.3.6.1. Meniskometrija .....	32
1.3.6.2. Schirmerov test .....	33
1.3.7. Pregled suznog filma: procjena kvalitete suza .....	35
1.3.7.1. Evaporimetrija .....	35
1.3.7.2. Mjerenje osmolarnosti suza .....	35
1.3.7.3. Procjena stabilnosti suznog filma .....	36
1.3.7.3.1. Invazivni test pucanja suznog filma .....	37
1.3.7.3.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma .....	39
1.3.7.3.2.1. Mjerenje NIBUT-a keratometrijom .....	41
1.3.7.3.2.2. Mjerenje NIBUT-a videokeratoskopijom .....	42
1.3.7.3.2.3. Mjerenje NIBUT-a interferometrijom lipidnog sloja .....	46
1.3.7.3.2.4. Mjerenje NIBUT-a termografijom očne površine .....	52
1.3.8. Algoritam dijagnostike bolesti suhog oka .....	54
<b>2. HIPOTEZA .....</b>	<b>57</b>
<b>3. CILJEVI RADA .....</b>	<b>58</b>
3.1. Opći cilj .....	58
3.2. Specifični ciljevi .....	58
<b>4. MATERIJALI I METODE (ISPITANICI – UZORAK) .....</b>	<b>59</b>
4.1. Etička načela .....	59
4.2. Ispitanici .....	59
4.3. Materijal .....	61
4.4. Metode .....	62
4.4.1. Redoslijed i opis pregleda .....	62
4.4.1.1. Detekcija i kvantifikacija simptoma bolesti suhog oka .....	62

4.4.1.2. Procjena znakova bolesti suhog oka .....	63
4.4.1.2.1. Neinvazivni test pucanja suznog filma .....	64
4.4.1.2.2. Debljina lipidnog sloja suza .....	65
4.4.1.2.3. Hiperemija spojnice .....	67
4.4.1.2.4. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe .....	67
4.4.1.2.5. Invazivni test pucanja suznog filma .....	68
4.4.1.2.6. Bojenje rožnice fluoresceinom .....	68
4.5. Statistička obrada .....	69
<b>5. REZULTATI .....</b>	<b>70</b>
5.1. Opis istraživačkog uzorka .....	70
5.1.1. Demografska obilježja ispitanika .....	70
5.1.2. Simptomi bolesti suhog oka .....	72
5.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma .....	74
5.3. Invazivni test pucanja suznog filma .....	76
5.4. Korelacije vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima TBUT-a .....	78
5.5. Korelacije vrijednosti NIBUT-a s drugim kliničkim znakovima bolesti suhog oka .....	83
5.5.1. Korelacije NIBUT-a s načinom pucanja suznog filma .....	83
5.5.2. Korelacije NIBUT-a s debljinom lipidnog sloja suza .....	85
5.5.3. Korelacije NIBUT-a s hiperemijom spojnice .....	87
5.5.4. Korelacije NIBUT-a s naborima spojnice paralelnima s rubom vjeđe .....	88
5.5.5. Korelacije NIBUT-a s bojenjem rožnice fluoresceinom .....	90
5.6. Korelacije NIBUT-a sa simptomima bolesti suhog oka i tipom kože .....	92
5.6.1. Korelacije NIBUT-a sa simptomima bolesti suhog oka .....	92
5.6.2. Korelacije NIBUT-a s tipom kože .....	93
5.7. Univarijantna i multipla logistička regresija .....	95
5.8. Dijagnostička točnost NIBUT-a .....	97
5.8.1. ROC analiza .....	97
5.8.2. Osjetljivost i specifičnost .....	99
5.8.3. Prediktivne vrijednosti .....	100
5.8.4. Dijagnostička točnost .....	101
5.9. Usporedba dijagnostičke točnosti NIBUT-a s točnošću TBUT-a .....	102
5.9.1. ROC analiza .....	102
5.9.2. Osjetljivost i specifičnost .....	104

<b>6. RASPRAVA</b> .....	105
6.1. Demografska obilježja ispitanika .....	105
6.2. Simptomi bolesti suhog oka .....	108
6.2.1. Simptomi bolesti suhog oka i dob .....	110
6.2.2. Simptomi bolesti suhog oka i spol .....	110
6.3. Neinvazivni test pucanja suznog filma .....	111
6.3.1. NIBUT i ispitivane skupine .....	118
6.3.2. Ponovljivost NIBUT-a .....	118
6.4. Invazivni test pucanja suznog filma .....	118
6.4.1. TBUT i ispitivane skupine .....	119
6.4.2. Ponovljivost TBUT-a .....	119
6.4.3. Usporedba ponovljivosti NIBUT-a s ponovljivošću TBUT-a .....	120
6.5. Korelacije vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima TBUT-a .....	121
6.6. NIBUT i drugi znakovi bolesti suhog oka .....	123
6.7. NIBUT i simptomi bolesti suhog oka .....	126
6.8. NIBUT i tip kože lica .....	126
6.9. Univarijantna i multipla logistička regresija .....	127
6.10. Dijagnostička točnost NIBUT-a .....	128
6.10.1. Dijagnostička obilježja NIBUT-a .....	128
6.10.2. Pozitivna i negativna prediktivna vrijednost te dijagnostička točnost NIBUT-a .....	130
6.10.3. Usporedba dijagnostičke točnosti NIBUT-a s dijagnostičkom točnošću TBUT-a .....	131
6.11. Ograničenja istraživanja .....	131
<b>7. ZAKLJUČAK</b> .....	133
<b>8. KRATAK SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU</b> .....	135
<b>9. KRATAK SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU</b> .....	136
<b>10. POPIS LITERATURE</b> .....	137
<b>11. KRATKA BIOGRAFIJA</b> .....	150

## POPIS OZNAKA I KRATICA :

TBUT	engl. Tear break-up time – Invazivni test pucanja suznog filma
NIBUT	engl. Non-invasive tear break-up time – Neinvazivni test pucanja suznog filma
BUT	engl. Break-up time – Vrijeme pucanja suznog filma nakon treptaja
LFU	engl. The Lacrimal Functional Unit – Sustav za kontrolu dinamike suza
EGF	engl. Epidermal growth factor – Epidermalni faktor rasta
HGF	engl. Hepatocyte growth factor – Faktor rasta hepatocita
MUC5AC	Mucin 5AC
IgA	Imunoglobulin A
LDH	Laktat dehidrogenaza
MDH	Malat dehidrogenaza
TFOS DEWS	engl. Tear Film and Ocular Surface Society / Dry Eye Workshop – Internacionalna radna skupina za suho oko
ADES	engl. Asia Dry Eye Society – Azijsko društvo za suho oko
MGD	engl. Meibomian gland dysfunction – Disfunkcija Meibomovih žlijezdi
TNF	engl. Tumor necrosis factor – Faktor nekroze tumora
IL1 $\alpha$ i 1 $\beta$	Interleukin 1 $\alpha$ i 1 $\beta$
IL6	Interleukin 6
OSDI	engl. Ocular Surface Disease Index – Upitnik za suho oko
DEQ – 5	engl. Dry Eye Questionnaire – Upitnik za suho oko
IDEEL	engl. Impact of Dry Eye on Everyday Living – Upitnik za suho oko
NEI VFQ-25	engl. National Eye Institute's Visual Function Questionnaire – Upitnik za suho oko
DEQS	engl. Dry Eye – Related Quality-of-life Score – Upitnik za suho oko
CVSS17	engl. Computer – Vision symptom scale – Upitnik za suho oko
FVAM	engl. Functional visual acuity measurement system – Sustav za mjerenje funkcionalne vidne oštine
PBBT	engl. Post-Blink Blur Time – Test perioda vremena u kojem dolazi do zamućenja linije najbolje korigirane vidne oštine
LIPCOF	engl. Lid Parallel Conjunctival Folds – Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe
NEI	engl. National Eye Institute / Industry Workshop – Radna skupina za suho oko
CLEK	engl. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus – Test bojenja vitalnim bojama
OSS	engl. Ocular staining score – Test bojenja vitalnim bojama
CCLRU	engl. Cornea and Contact Lens Research Unit – Skala za stupnjevanje hiperemije spojnice



MMP	Matriks metaloproteinaza
OCT	Optička koherentna tomografija
TSAS	engl. Tear film Stability Analysis System software – računalni program za analizu stabilnosti suznog filma
HSV	engl. High speed videokeratoscopy – Videokeratoskopija velike brzine
LED	engl. Light Emitting Diode – Svjetleća dioda
LLT	engl. Lipid Layer Thickness – Debljina lipidnog sloja suza
SD	Standardna devijacija
TTT	engl. Tear thinning time – Vrijeme stanjenja suznog filma
lm	Lumen je izvedena SI jedinica svjetlosnog toka. Definiran je svjetlosnim tokom što ga u ugao (prostorni kut) jednog steradijana odašilje točkasti izvor svjetlosti kojemu je svjetlosna jakost u svim smjerovima jedna kandela (1 lm = 1 cd·sr).

## **MJERNE JEDINICE:**

nm	nanometar
µm	mikrometar
mm	milimetar
cm	centimetar
°C	Celzijev stupanj
µl	mikrolitar
pH	(lat. potentia hydrogenii – snaga vodika)
g/cm/s	gram/centimetar/sekunda
mOsm/L	miliosmol po litri
lm	lumen

# 1. UVOD I SVRHA RADA

Uredna funkcija i pravilnost dispergiranja suznog filma na površini rožnice od presudna su značaja za kvalitetu vida i zdravlje oka. Poznato je da su veća nepravilnost i veće fluktuacije debljine suznog filma, odnosno njegova disfunkcija, osnovni znakovi suhog oka (1). Prema novijim spoznajama gotovo svaka druga ili treća osoba starija od 50 godina ima suho oko (2). Smetnje suhog oka ujedno su i jedan od najčešćih razloga posjeta oftalmologu. No, bez obzira na pandemične razmjere ove bolesti, njezino dijagnosticiranje ostaje jedan od ključnih problema u rutinskoj oftalmološkoj praksi. Svaki bi oftalmolog u svojoj ambulanti u svakodnevnom radu trebao moći na pouzdan i jednostavan način otkriti pacijente sa suhim okom, a njegova dijagnostika trebala bi biti dostupna svima. No, je li to baš tako?

Suvremena dijagnostika bolesti suhog oka oslanja se na evaluaciju njezinih simptoma i znakova (3 – 5). Simptomi su možda najkonzistentniji pokazatelji bolesti suhog oka, no zamjera im se subjektivnost, a time i nemogućnost njihove objektivizacije. S druge strane, znakova ima mnogo. Svaki od njih evaluira samo jedan dio složenoga patofiziološkog procesa bolesti suhog oka pa se postavlja pitanje koji je od njih najpouzdaniji.

Prema trenutno važećim smjernicama, stabilnost suznog filma smatra se najvažnijim parametrom za njegovu urednu funkciju, a smanjena stabilnost najvažnijim znakom bolesti suhog oka (3 – 5). Problem leži u nedostatku pouzdane i praktične metode za njezinu procjenu. Invazivni test procjene stabilnosti suznog filma (engl. *Tear film break-up time*; TBUT) standardna je i općeprihvaćena metoda u dijagnostici bolesti suhog oka koja zahtijeva kapanje fluoresceinske otopine u oko čime se mijenja fiziologija suza u nativnom stanju (3 – 6). Brojni su je radovi okarakterizirali kao nepouzdanu, nereproducibilnu i neznanstvenu (7 – 11). S druge strane, neinvazivni test pucanja suznog filma (engl. *Non-invasive tear break-up time*; NIBUT) omogućuje procjenu stabilnosti suznog filma bez kapanja kapi u oko i time bolji uvid u njegovo fiziološko stanje (11, 13). Stoga se, prema raznim izvještajima, NIBUT smatra pouzdanijim od TBUT-a u procjeni funkcije suznog filma (11 – 13). Osnovni mu je nedostatak što zahtijeva skupu i nedostupnu opremu zbog čega nije naišao na širu rutinsku primjenu, a standardni uređaj za njegovu procjenu, Tearscope, više se ne proizvodi.

Odnedavno se u literaturi pojavio opis ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza (14, 15). To je instrument koji koristi isti princip interferometrije kao i standardni uređaj za mjerenje NIBUT-a Tearscope. Njegove su glavne prednosti: praktičnost, niska cijena i jednostavnost uporabe što bi moglo omogućiti mjerenje NIBUT-a

jednostavnijim i dostupnijim načinom nego Tearscopeom, a time i primjenu NIBUT-a u rutinskom radu oftalmologa.

Stoga se u ovom istraživanju ispituje može li se ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza mjeriti NIBUT te može li ovako izmjeren NIBUT poslužiti za pouzdanu, praktičnu i rutinsku detekciju pacijenta sa smetnjama bolesti suhog oka.

## 1.1. SUZNI FILM

### 1.1.1. ULOGA SUZNOG FILMA U ZDRAVLJU OKA I KVALITETI VIDA

Suzni film nije jednostavna nestrukturirana tekućina na oku koja se prelijeva niz lice izazvana emocionalnom stimulacijom ili iritacijom. On je visokospecijalizirani i integralni dio površine oka koji je prijeko potreban za kvalitetu vida i zdravlje oka. Suzni film, prije svega, podmazuje i vlaži strukture očne površine. Čini ih glatkima i sjajnim, smanjuje trenje između vjeđa i očne jabučice te olakšava treptanje. Nedostatno podmazivanje i vlaženje rezultira nastankom simptoma bolesti suhog oka i smetnjama vida. Nadalje, suzni film čisti i štiti očnu površinu od mikroba, kemijskih iritansa i ostalih štetnih tvari na način da onemogućuje njihovo vezivanje i olakšava njihovo otplavlivanje. Obavlja glavnu nutritivnu funkciju u opskrbi avaskularne rožnice kisikom. Čuva populaciju matičnih stanica za regeneraciju rožnice i spojnice. Važan je u održavanju optičke funkcije prednje površine oka održavajući rožnicu proziranom, a čitavu površinu oka ravnom, glatkom i pravilnom. Konačno, suzni film i sam sudjeluje u formiranju kvalitetne slike na mrežnici s obzirom na to da čini prvu lomnu granicu upadnih zraka svjetlosti u oko (16). Za kvalitetan vid suzni film mora biti stabilan, a njegova površina pravilna i prozirna. Nepravilnosti suznog filma i rožnice rezultiraju stvaranjem aberacija višeg reda koje umanjuju kvalitetu vida. Sustav odgovoran za održavanje homeostaze suznog filma je sustav za kontrolu sekrecije, distribucije i ekskrecije suza (engl. *The Lacrimal Functional Unit; LFU*) (17).

LFU je kompleksan sustav koji čine Meibomove žlijezde, rožnica, spojnica, gornja i donja vjeđa, suzna žlijezda i motorni neuroni. On modulira odgovor struktura za proizvodnju suza na okolišne, endogene, endokrinološke i kortikalne podražaje. Kontrolira distribuciju suza na površini oka, kao i njihovu ekskreciju drenažnim sustavom u nosnu šupljinu (16, 17).

Pod nadzorom je živčanoga refleksnog luka. Osjetna, aferentna vlakna započinju na nociceptorima rožnice i spojnice, a dio su oftalmičke grane trigeminalnog živca. Autonomna, eferentna parasimpatička vlakna ličnog živca te simpatička vlakna cervikalnog spleta inerviraju suznu žlijezdu, Meibomove žlijezde i Gobletove stanice u proizvodnji i sekreciji suza, dok motorna vlakna inerviraju orbikularni mišić u kontroli treptanja. Smatra se da odrasla osoba trepne petnaestak puta u minuti. Tijekom treptaja iz Meibomovih se žlijezda istiskuju lipidi, suzni film nadomješta se iz suznog meniska uz rub donje vjeđe te se višak suza drenira kroz punktume u ekskretorni sustav. Osnovna je funkcija ovoga kompleksnog sustava održavanje normalne funkcije i zdravlja preokularnog suznog filma (16, 17).

## 1.1.2. ANATOMIJA I FIZIOLOGIJA SUZNOG FILMA

### 1.1.2.1. Distribucija suza na površini oka

Na površini oka, suze su distribuirane u tri odvojena odjeljka (12):

1. Gornji i donji suzni menisk – nalaze se uz rub gornje i donje vjeđe
2. Preokularni suzni film – prekriva rožnicu i bulbarnu spojnicu
3. Suze u spojničjoj vreći – nalaze se između tarzalne i bulbarne spojnice.

Preokularni suzni film i suzni menisci uvelike se razlikuju prema svojoj građi. Menisci se pretežno sastoje od vodene komponente suza. Nalaze se u kutu između očne jabučice i ruba gornje ili donje vjeđe. Formiraju se površinskom napetošću suza kada se vjeđa odvoji od očne jabučice prilikom treptaja. Negativni hidrostatski tlak odgovoran je za njihovu konkavnu površinu što sprečava ekskreciju vodene komponente suza u punktume kad su oči otvorene, a suze se dreniraju samo u prvim dvjema sekundama treptaja. U suznim meniscima nalazi se otprilike 70 % – 90 % ukupne količine suza. Između meniska i preokularnog dijela vodeni sloj ne difundira, već je podijeljen u dva odvojena odjeljka tzv. "crnom linijom". To je zona najtanjeg dijela suznog filma (12). Za razliku od vodenoga, lipidni se sloj kontinuirano rasprostire čitavom površinom oka i suznog filma.

S druge strane, preokularni suzni film slojevite je građe. Sastoji se od triju slojeva: lipidnoga, mukoznoga i vodenoga. U svojem je normalnom sastavu izrazito stabilan, a njegovi slojevi međusobno čvrsto prijanjaju (18). Eliminira se iz oka putem ekskretornog sustava, evaporacijom i apsorpcijom.

### 1.1.2.2. Struktura preokularnog suznog filma

Preokularni suzni film na površini oka funkcionira kao zasebna cjelina, pri čemu njegovi slojevi i njihova sučelja igraju važnu ulogu (18). Izrazito je tanak, mjereno ultrarezolutnom optičkom koherentnom tomografijom, debljina mu je 2 – 5,5  $\mu\text{m}$  (19, 20). S obzirom na to da voda ima visoku površinsku napetost, postavlja se pitanje – kako je moguće formiranje tako tanke vodene strukture, a da ona pritom ne kolabira. Suzni film, kada je uredan, izrazito je stabilna struktura koja odolijeva evaporaciji (isparavanju). Da bi to bilo moguće, površina po kojoj se rasprostire mora imati karakteristike slične vodi, površinska napetost između zraka i suznog filma mora biti niska te on mora biti zaštićen od evaporacije. Ti su uvjeti zadovoljeni građom struktura očne površine i složenom strukturom slojeva suznog filma te njihovih sučelja. Mucini na površini epitela rožnice i spojnice povećavaju adhezijske sile, a lipidni sloj suza umanjuje površinsku napetost preuzimajući ulogu surfaktanta. Pravilnim rasprostiranjem preko vodenog sloja, lipidni sloj sprečava njegovu evaporaciju. Time se omogućuje formiranje i rasprostiranje tankoga i stabilnoga suznog filma na površini oka (12).

Prema starijem Wolffovu konceptu iz 1946. godine, preokularni suzni film smatrao se troslojnom strukturom (21). Krenuvši od epitela prema površini, suzni film sastojao se od mukoznog sloja, zatim vodenoga te površinskoga lipidnog sloja. Mukozni sloj prekrivao je površinu oka smanjujući hidrofobnost epitelnih stanica. Vodeni sloj imao je ulogu vlaženja oka, dostave nutritivnih i antimikrobnih elemenata te održavanja osmolarnosti suznog filma. Lipidni sloj sprečavao je evaporaciju i gubitak vodenog sloja. Iako se radi o zastarjelu modelu, zbog svoje se jednostavnosti i danas često primjenjuje. No, znanstvena zajednica smatra ga "značajnim pojednostavnjenjem stvarnosti" koji kontinuirano pridonosi slabu razumijevanju stvarne strukture, dinamike i funkcije suznog filma (12).

Novije spoznaje govore da su mucinske molekule raspršene u vodenoj komponenti suznog filma, a njihova se koncentracija smanjuje od površine oka prema lipidnom sloju. Stoga, prema novom modelu suznog filma, mukozni i vodeni sloj nisu potpuno odvojeni, već su faze jednog jedinstvenog sloja (18, 22). Mukozno-vodeni sloj po svojoj strukturi je gel te kao takav ima važnu ulogu u vlaženju oka, jednolikoj disperziji suza, zaštiti i očuvanju homeostaze struktura površine oka te dodatnoj stabilizaciji suznog filma na njoj (22). Lipidni sloj prilikom svakog treptaja prostire se površinom mukozno-vodenog sloja silama površinske napetosti. Sprečava isušivanje suza, smanjuje njihovu površinsku napetost te održava suzni

film stabilnim (23). Za razliku od ranijega, u novom dvoslojnom konceptu suznog filma ističe se važnost ne samo funkcije njegovih slojeva i njihovih složenih interakcija nego i međuodnos struktura očne površine s tim slojevima.

#### 1.1.2.2.1. Lipidni sloj

Lipidni sloj nalazi se na površini suznog filma pravilno dispergirani iznad mukozno-vodenog sloja (18). To je najtanji sloj suza, a njegova debljina mjerena različitim uređajima iznosi od 15 do 157 nm (23). Proizvode ga najvećim dijelom Meibomove žlijezde, tubuloacinarne žlijezde koje se nalaze u tarsusu gornje i donje vjeđe. One su holokrine, modificirane velike žlijezde lojnice. U gornjoj vjeđi ima ih 30 – 40, a u donjoj 10 – 20. Njihova ušća nalaze se na rubu vjeđa između sive linije i mukokutanog spoja (16, 17). Lipidni sloj izlučuje se pri svakom treptaju ekspresijom na ušću Meibomovih žlijezda, anteriorno od mukokutane granice ruba vjeđe. Smatra se da je spremnik lipida u vjeđama 30 puta veći od količine lipida na površini suznog filma. Sekret Meibomovih žlijezda, tzv. *meibum*, sastoji se 95 % od nepolarnih lipida, a 5 % od polarnih lipida. Nepolarni su lipidi miješani voštani i sterolski esteri, a polarni slobodni steroli, slobodne masne kiseline, ugljikovodici i fosfolipidi (12, 23). Otapa se u rasponu temperature od 19 °C do 32 °C, što je unutar fizioloških temperatura površine oka (24). Problem nastaje zimi pri niskim temperaturama kada temperatura vjeđe padne ispod točke tališta tog sekreta. U tim uvjetima smanjuje se sekrecija lipida na površini oka i stvara se tanki lipidni sloj, što rezultira pojačanim isparavanjem suza i suhim okom (25). Lipidi ovog sloja manjim su dijelom proizvod i lojnih Zeisovih te apokrinih Mollovih žlijezda.

Lipidni se sloj na površini suznog filma može vizualizirati metodom interferometrije, a vidi se poput vodoravno položenih obojenih linija, kao ulje na površini vode (14, 26). Što je on deblji, to su boje intenzivnije. Tanak lipidni sloj vidi se u obliku rjeđih, okomito položenih linija, a boje su mu slabijeg intenziteta do sive.

Ovaj sloj možda je i najvažniji u (dis)funkciji suznog filma. Pravilnim rasprostiranjem preko vodene komponente održava suzni film stabilnim na način da ga štiti od isušivanja (14, 22 – 23, 27). Suzni film ostaje stabilan u prosjeku oko 30 sekunda nakon treptaja, potom kolabira, a na njegovoj površini nastaju pukotine. Kolaps je rezultat njegova stanjivanja, zbog evaporacije (isparavanja) vodenog sloja na mjestima deficita lipidnog sloja.

Prilikom treptaja, u prvoj fazi zatvaranja vjeđa, lipidni se sloj komprimira, a u drugoj fazi otvaranja vjeđa on se širi preko površine suznog filma. Postiže punu stabilnost nakon nekoliko sekunda i ostaje stabilan do sljedećeg treptaja. Da bi to bilo moguće, površinska napetost između zraka i suznog filma mora biti niska. Smatra se da upravo polarni lipidi imaju najvažniju ulogu u smanjenju površinske napetosti između zraka i suznog filma, a nepolarni lipidi omogućavaju njegovu kompresibilnost i stabilnost (27). Neravnoteža komponenti lipidnog sloja, bilo da je on tanak bilo da je promijenjena sastava, rezultira njegovom nestabilnošću, bržim isušivanjem i kolapsom suznog filma na površini oka, a time i smetnjama bolesti suhog oka. Donedavno se smatralo da samo lipidni sloj sprečava evaporaciju. No, prema novijim spoznajama važnu ulogu u njezinoj kontroli imaju i mucini (27). Evaporacijom vodene komponente raste koncentracija proteina mukozno-vodenog sloja te proteina lipidnog sloja. Ti proteini formiraju gustu polimernu mrežu strukture gela kojom se također sprečava prekomjerna evaporacija.

Lipidni sloj ima važnu ulogu u podmazivanju oka prilikom treptanja (22). Sprečava prelijevanje suza preko rubova vjeđa te onemogućuje kontaminaciju suznog filma s lipidima kože. Nalazi se na granici zraka i suznog filma i ima važna optička svojstva (12, 25, 27).

Sekrecija Meibomovih žlijezda u velikoj je mjeri hormonalno regulirana. Meibomove žlijezde ciljani su organ spolnih hormona, a najvažniju ulogu imaju androgeni. Pad koncentracije cirkulirajućih androgena može rezultirati njihovom disfunkcijom i razvojem hiperevaporativnog suhog oka (23). Žene imaju manje androgena u krvi od muškaraca, a time i slabije lučenje meibuma iz Meibomovih žlijezda, što objašnjava činjenicu da je suho oko češće u žena nego u muškaraca. Starenjem također pada ukupna količina androgena i broj aktivnih Meibomovih žlijezda te je to jedan od razloga razvoja bolesti suhog oka u starijoj populaciji (28). Progesteron i estrogen također reguliraju funkciju Meibomovih žlijezda, ali se njihova uloga još uvijek istražuje. U suznom filmu nalaze se u puno manjim koncentracijama nego u serumu, a njihovi su receptori otkriveni na svim strukturama površine oka. Uloga ovih hormona na funkciju Meibomovih žlijezda u različitim istraživanjima pokazala se različitom. Dok je većina istraživanja utvrdila da smanjuju sekreciju lipida, smanjuju stabilnost suznog filma i izazivaju bolest suhog oka, druga izvješćuju o poboljšanju stabilnosti suznog filma i simptoma suhog oka kod žena koje su uzimale hormonsku nadomjesnu terapiju (28).

#### 1.1.2.2.2. Mukozno-vodeni sloj

Mukozno-vodeni sloj suza nalazi se ispod površinskoga lipidnog sloja. U ovom sloju mucinske se molekule nalaze dispergirane u vodenom dijelu suznog filma u gradijentu koji se smanjuje prema lipidnom sloju, zbog čega ima strukturu gela (12, 18, 27). Svakim treptajem, mukozno-vodeni sloj u potpunosti se nadomjesti iz suznih meniska.

Najvažnija uloga mukozno-vodene komponente suza je podmazivanje površine između vjeđa i očne jabučice prilikom svakog treptaja. Smatra se da upravo povećano trenje između vjeđa i očne jabučice izaziva simptome suhog oka (22). Mukozno-vodeni sloj hidratizira strukture očne površine te olakšava njihovu reepitelizaciju nakon abrazije epitela. Također, olakšava eliminaciju oljuštenih epitelnih stanica, upalnih stanica i mikroorganizama tako da ih veže, a one se zatim nakupljaju u donjoj spojnoj vreći te se dreniraju van putem punktuma. Ima i važnu obrambenu funkciju pomoću obrambenih proteina lizozima, laktoferina, raznih peptida, surfaktanata i imunoglobulina (12, 29). Lizozim i laktoferin proizvod su suzne žlijezde, a njihova koncentracija smanjena je u hiposekrecijskom suhom oku, što oko čini izloženijim infekcijama. Epidermalni faktor rasta (engl. *Epidermal growth factor*; EGF) i faktor rasta hepatocita (engl. *Hepatocyte growth factor*; HGF) u ovom sloju esencijalni su za održavanje integriteta epitela struktura očne površine. Kod suhog oka, u suznom filmu su u većoj koncentraciji prisutni proteini plazme, primjerice albumin, što je rezultat povećane propusnosti krvnih žila spojnice i suzne žlijezde te epitela spojnice u upali.

**Vodena komponenta mukozno-vodenog sloja.** Vodeni dio suznog filma debljine je oko pet-šest  $\mu\text{m}$  (30). Najdeblji je sloj suza i čini više od 90 % njihova ukupnoga volumena. Proizvod je glavne suzne žlijezde te akcesornih Krauseovih i Wolfringovih suznih žlijezda (31). U svojem sastavu sadrži brojne proteine, elektrolite i metabolite. Opskrbljuje avaskularnu rožnicu kisikom, održava konstantni elektrolitski sastav na površini oka, osigurava antibakterijsku i antivirusnu zaštitu oka, služi za ispiranje debrisa i štetnih tvari s površine oka te, konačno, modulira funkciju epitelnih stanica spojnice i rožnice (12, 16).

Proteini su jedan od osnovnih gradivnih elemenata mukozno-vodenog sloja, proizvod su glavne suzne žlijezde, Meibomovih žlijezda i spojnice. Prema najnovijim istraživanjima, u suznom filmu je izolirano oko 1800 proteina (32). Njihove su funkcije brojne: proinflatorna, antibakterijska, sudjeluju u poboljšanju stabilnosti suznog filma, u metaboličkim procesima struktura prednjeg segmenta te služe kao biomarkeri u dijagnostici i liječenju bolesti površine oka (27). Najistaknutiji proteini su EGF, interleukin  $1\alpha$ , interleukin 6, laktoferin, lipokalin 1, matriks metaloproteinaza 9, mucin-MUC5AC, grupa IIA fosfolipaze



A2, imunoglobulini, lizozim, beta-lizin te razni enzimi. EGF potiče obnovu epitela rožnice i spojnice. Snižen je u Sjögrenovu sindromu i hiposekrecijskom suhom oku, a povišen kod hiperevaporativnog suhog oka. Interleukin 1 $\alpha$  je promotor upale te je povišen u Sjögrenovu sindromu i disfunkciji Meibomovih žlijezda. Laktoferin djeluje bakteriostatski, proizvodi ga suzna žlijezda, a koncentracija mu pada pri smanjenoj produkciji vodene komponente suza. Laktoferin je snižen u Sjögrenovu sindromu i hiposekrecijskom suhom oku. Lipokalin 1 služi za stabilizaciju suznog filma stvarajući stabilne veze s lipidima iz lipidnog sloja. Identificiran je kao autoantigen u Sjögrenovu sindromu te je snižen kod hiperevaporativnog suhog oka. Nadalje, matrix metaloproteinaza 9 je endopeptidaza čija je koncentracija povišena u upalnim stanjima površine oka. Fosfolipaza A2 je povišena u svim oblicima bolesti suhog oka. Imunoglobulini su proizvod plazma stanica, a najzastupljeniji u suznom filmu je imunoglobulin A. Lizozim se u suzama nalazi u većoj koncentraciji nego u drugim tjelesnim tekućinama. Ima sposobnost rastvaranja bakterijskih zidova enzimatskom digestijom. Njegova koncentracija u suzama opada starenjem i kod bolesti suhog oka. U suznome filmu nalaze se i razni enzimi, npr. laktat dehidrogenaza (LDH), piruvat kinaza, malat dehidrogenaza (MDH) i amilaza (27,32).

U vodenoj komponenti suznog filma nalaze se brojni elektroliti (natrij, kalij, kalcij, magnezij, klor, fosfati i bikarbonati), peptidi i metaboliti (karnitin, aminokiseline, urea, glukoza, laktati) te prije svega kisik za opskrbu avaskularne rožnice. Chen i sur. identificirali su 60 metabolita u suznome filmu (33). Zdrav suzni film i suzni film kod suhog oka značajno se razlikuju po svojem kemijskom sastavu. Npr., vrijednosti karnitina snižene su kod disfunkcije suznog filma, a to smanjuje retenciju tekućine u vodeni sloj. Time se povećava evaporacija i osmolarnost suznog filma; oba parametra promijenjena u gotovo svim oblicima bolesti suhog oka. Osobe s normalnom funkcijom vodenog sloja imaju višu koncentraciju glikoproteina, lipida, kolesterola, glicerola i glutamata, nego osobe s disfunkcijom istog. Kod suhog oka povišene su vrijednosti glukoze i laktata, a dokazan je i povoljan učinak antioksidansa i nezasićenih masnih kiselina u njegovu liječenju. Kemijski sastav suza reflektira lokalni i sistemski status pacijenata, što otvara vrata pronalasku važnih biomarkera u dijagnostici i liječenju bolesti suhog oka (27, 33).

**Suzna žlijezda.** Glavna suzna žlijezda je tubuloacinarna, serozna žlijezda nalik žlijezdama slinovnicama. Građena je od tubuloacinarnih, duktalnih i mioepitelnih stanica, a prevladavaju acinarne stanice. Nalazi se u gornjem, vanjskom kvadrantu orbite unutar fose suzne žlijezde. Aponeuroza mišića podizača gornje vjeđe dijeli je na veći orbitalni i manji palpebralni režanj. Izvodni kanalići orbitalnog režnja prolaze kroz palpebralni i zajedno s

izvodnim kanalićima palpebralnog režnja izlučuju sekret u gornju spojničnu vreću (31). Traumatsko ili jatrogeno oštećenje palpebralnog dijela može prekinuti sekreciju iz cijele žlijezde. Glavna suzna žlijezda proizvodi 90 % vodene komponente suznog filma. Bogato je prožeta upalnim stanicama, plazma stanicama, limfocitima B i T, dendritičkim stanicama, makrofagima, monocitima i mastocitima, a najbrojnije su plazma stanice. Stimulacija njezine sekrecije regulirana je refleksnim lukom čija su aferentna vlakna osjetni ogranci trigeminalnog živca, a eferentna vlakna parasimpatički ogranci facijalnog živca te simpatički ogranci cervikalnoga spleta. Refleksni luk može se stimulirati perifernim podražajima struktura očne površine i nazalne spojnice ili centralnim, retinalnim i psihogenim, podražajima. Poput žlijezda slinovnica, suzna žlijezda ima sposobnost regeneracije (12, 31).

***Mukozna komponenta mukozno-vodenog sloja.*** Mucini su glikoproteini velike molekularne težine. Sadrže jednu ili više glikoziliranih proteinskih domena koje formiraju glikokaliks, zaštitnu barijeru površina koje prekrivaju. Gradivni su element sluzi i nalaze se na površini sluznica respiratornoga, gastrointestinalnoga, reproduktivnog trakta te na očnoj površini (34). Glikoproteini mukoznog sloja očne površine proizvod su vrčastih Gobletovih stanica spojnice, Henleovih kripti u forniksima, epitela rožnice i spojnice te suznih žlijezda. Gobletove stanice čine 10 % bazalnih stanica epitela spojnice, a najbrojnije su na spojnici vjeđa i inferonazalnoj spojnici očne jabučice. Ima ih oko 1,5 milijun u svakoj spojnici (17).

Mucinske molekule dijele se na sekretorne i transmembranske (34). Sekretorne mucinske molekule raspršene su u vodenom dijelu suznog filma u gradijentu koji se smanjuje od površine oka prema lipidnom sloju. One su proizvod Gobletovih stanica, a formiraju gel mukozno-vodene komponente. Suznom filmu daju viskoelastična svojstva, što omogućuje prekrivanje površinskih nepravilnosti i ima ključnu ulogu u prevladavanju mehaničkih oštećenja (erozije) rožnice i spojnice (12). Podmazivanjem smanjuju trenje između vjeđa i očne jabučice. Čiste očnu površinu od debrisa i patogena, sprečavaju njihovo vezivanje na površinu, a odstranjuju se treptanjem i putem ekskretornog sustava. Konačno, sprečavaju prekomjernu evaporaciju vodene komponente te time sudjeluju u održavanju suznog filma stabilnim na površini oka. Smatra se da u tome temeljnu ulogu ima MUC5AC, glavni gel – formirajući mucin. Transmembranski mucini nalaze se na površini oka (rožnice i spojnice), proizvod su epitelnih stanica rožnice, spojnice i suznih žlijezda. Formiraju glikokaliks, glikoproteinski omotač na strukturama očne površine, što čini površinu epitela visoko polarnom i stoga visoko vlažljivom vodenim otopinama. Omogućuje jednoliku disperziju suza na površini oka. Ova komponenta suznog filma ima obrambenu funkciju (16).

### 1.1.2.3. Stabilnost suznog filma

Stabilnost suznog filma parametar je od najveće važnosti u (dis)funkciji suza, a njegova smanjena stabilnost temeljni je pokazatelj bolesti suhog oka (3 – 5, 12 – 13, 16, 27). Naglašeno je to Brewittovom definicijom suhog oka, definicijama Internacionalne radne skupine za suho oko (engl. *The Tear Film & Ocular Surface Society International Dry Eye Workshop*; TFOS DEWS) iz 2007. god., izmijenjene i dopunjene 2017. god. te definicijom Azijskog društva za suho oko (engl. *Asia Dry Eye Society*; ADES) iz 2016. god. (3 – 5, 35).

Vrijeme koje je potrebno suznom filmu da se formira na površini oka i postigne svoje najstabilnije stanje iznosi 3 – 10 sekunda (36, 37). No, kada se formira, suzni film ne ostaje trajno stabilnim. Ako se onemogućiti treptanje, nakon 15 do 40 sekunda pojavljuju se zone kolapsa i njegova pucanja (38). Rezultat je to njegova stanjivanja zbog evaporacije vodene komponente. Stabilnost suznog filma temeljna je funkcija njegovih slojeva te ovisi o njihovoj kvaliteti, kvantiteti i omjeru elemenata. Lipidni sloj pravilnim rasprostranjem preko vodene komponente sprečava njezinu evaporaciju. Tanak lipidni sloj ili lipidni sloj promijenjena sastava rezultirat će većom stopom evaporacije, bržim pucanjem suznog filma, njegovom smanjenom stabilnošću te hiperevaporativnim suhim okom (14, 23, 27). Osim lipidnog sloja, proteini mukozne komponente formiranjem guste polimerne mreže sprečavaju prekomjernu evaporaciju. Kod hiposekrecijskog suhog oka stopa evaporacije je uredna, ali suze brže evaporiraju zbog deficita njihove količine. Rezultat je nestabilan suzni film i nastanak simptoma bolesti suhog oka.

No, nije samo evaporacija suznog filma razlog njegovu pucanju. To potkrepljuje činjenica da *in vitro* promjene u lipidnom sloju i evaporacija vodene komponente nastaju nekoliko minuta nakon treptaja (39). Zašto se suzni film ipak destabilizira unutar tridesetak sekunda na površini oka? Neki autori smatraju da do pucanja suznog filma dolazi zbog miješanja lipida iz lipidnog sloja s mucinima na mukozno-vodenoj i lipidnoj granici, čime se stvaraju hidrofobne zone njegova pucanja. Ističe se i važnost cjelovitosti epitela rožnice i glikokaliksa u održavanju stabilnosti suznog filma (27).

Djeca imaju visoko stabilan suzni film. Starenjem se stabilnost suza smanjuje, a povećavaju se frekvencija treptanja, u prosjeku od 15 do 20 puta u minuti. Patel i sur. mjerili su stabilnost suznog filma na uzorku od 110 ispitanika u dobi od 18 do 89 godina te utvrdili da je ona bila lošija u starijih osoba (40). Smatrali su da je to posljedica involutivnih promjena očne površine i vjeđa, čime se narušava pravilno rasprostranje suza na površini oka. Nadalje,

Borchman je istaknuo da se starenjem mijenja kvaliteta meibuma te je to smatrao najodgovornijim za destabilizaciju suznog filma u starijih osoba (41). Konačno, Maissa i Guillon utvrdili su da je, osim starije životne dobi, glavni prediktor za nastanak nestabilna suznog filma ženski spol (42). U svojem istraživanju, koje je obuhvatilo 218 ispitanika, koristili su se Tearscopeom.

Uredna stabilnost i ravnomjerna distribucija suza rezultat je, među ostalim, pravilne, glatke i ravne površine oka. Nepravilnosti te površine, nastale zbog nošenja kontaktnih leća, kirurgije vjeđe, operacije mrežnice, tumora te degenerativnih i involutivnih promjena, mogu remetiti urednu funkciju suza.

Nadalje, i brojni okolišni čimbenici, npr. temperatura zraka, relativna vlažnost zraka, klimatizacija, strujanje zraka, duhanski dim i drugi iritansi, utječu na stabilnost suza (13). González-García i sur. utvrdili su da se smanjenjem relativne vlažnosti zraka s 34 % na 19 %, u laboratorijskim uvjetima, snizila i vrijednost NIBUT-a za oko 50 % (43). Ousler i sur. mjerili su utjecaj vlažnosti, temperature i strujanja zraka te osvjetljenja na preokularni suzni film (44). Izloženost suhim laboratorijskim uvjetima u trajanju od jednoga sata rezultirala je pojavom simptoma i znakova bolesti suhog oka (skraćeni TBUT) u ispitanika s inače urednom funkcijom suznog filma. Stabilnost suznog filma lošija je u hladnijim i sušim uvjetima nego u vlažnijim. To potkrepljuje i činjenica da su simptomi bolesti suhog oka izraženiji zimi, što se povezuje s češćim boravkom u suhim, zagrijanim prostorima. Naime, pri nepovoljnim uvjetima u okolini (smanjena vlažnost zraka, boravak u vjetrovitim, zadimljenim i klimatiziranim prostorima) povećava se evaporacija, a stabilnost suznog filma smanjuje. Simptomi suhog oka dodatno se pogoršavaju kod pacijenata koji imaju suho oko, a isti se mogu javiti i kod onih s graničnim suhim okom ili urednom funkcijom suza. Nadalje, istraživanja provedena na uzorku pušača i ispitanika koji su bili izloženi raznim iritansima, potvrdila su da se u tim uvjetima mijenja kvaliteta lipidnog sloja aktivacijom lipidne peroksidaze (45).

Usprkos ogromnim prednostima koje pruža tehnološka revolucija i svakodnevna uporaba računala i monitora na poslu i u domovima, rad na njima donosi i određene probleme povezane s vidom. Osnovni problem leži u činjenici da se prilikom rada na računalu smanjuje frekvencija treptanja i kvaliteta treptaja. U normalnim uvjetima osoba trepne od 15 do 20 puta u minuti te obično jednu sekundu prije pucanja suznog filma na njegovoj površini (46). Tijekom rada na računalu osoba trepće dvostruko rjeđe, od pet do deset puta u minuti. Time se smanjuje ekspresija lipida, lipidni sloj postaje tanak, dolazi do destabilizacije suznog filma na površini oka te se javljaju simptomi bolesti suhog oka i zamućenja vida (47).

#### 1.1.2.4. Osmolarnost suznog filma

Osmolarnost suznog filma mjera je ravnoteže između njegove proizvodnje, evaporacije, drenaže i apsorpcije (27). Kod suhog oka uvećana evaporacija i/ili smanjena sekrecija suza rezultira povećanjem koncentracije elektrolita vodene komponente, a suzni film postaje hiperosmolaran. Prema Radnoj skupini (engl. *National Eye Institute (NEI) / Industry Workshop*) iz 1995. hiperosmolaran suzni film proglašena je globalnim kriterijem bolesti suhog oka (6), a prema izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II) ista se smatra, zajedno sa smanjenom stabilnošću suza, temeljnom u njezinu nastanku (3, 4). Izravno i neizravno oštećuje epitel očne površine i Gobletove stanice te izaziva upalu struktura površine oka (27). Normalna vrijednost osmolarnosti suznog filma iznosi 270 – 315 mOsm/L (12). Zanimljivo je da nije ovisna o hormonskim fluktuacijama, spolu, dobi i rasi.

#### 1.1.2.5. Kristalizacija suznog filma

Suzni film, kada se nanese na mikroskopsko stakalce i osuši na sobnoj temperaturi, kristalizira na način da poprima izgled grančica. Sastav suznog filma utječe na način grananja osušenih proteina iz mukoznog sloja. Zdrav suzni film obično poprima izgled gusto, usko položenih, uniformnih grančica. Kod disfunkcije suznog filma, proteini su manje i rjeđe razgranati (12). Metoda se izvodi na način da se mikropipetom iz donjeg suznog meniska kapilarnim putem skupi uzorak suza. Uzorak se premaže preko mikroskopskog stakalca, osuši na sobnoj temperaturi te se promatra svjetlosnim mikroskopom. Test se mora izvoditi standardiziranim načinom: 1 – 4  $\mu$ l suza nanese se na mikroskopsko stakalce te se uzorak suši 7 – 10 minuta pri temperaturi od 20 °C do 26 °C i vlažnosti zraka manjoj od 50 %. Sve navedeno može utjecati na konačan rezultat. Većina autora za analizu koristi Rolandovu skalu od 1 (normalan nalaz, s gusto razgranatim suznim filmom) do 4 (potpuna odsutnost grančica u uzorku) (48). Manje razgranati uzorci ili uzorci bez grananja, tipičan su znak disfunkcije suznog filma. Iako se radi o jednostavnom testu, on nije naišao na širu primjenu. Glavni je razlog potreba za kontroliranim uvjetima, dodatnom opremom i određenim iskustvom.

### 1.1.2.6. pH suza

Normalni pH suza kreće se od 6,5 do 8,1. Vrijednosti su najniže tijekom sna jer je rožnica pri zatvorenom oku slabije opskrbljena kisikom te je njezin metabolizam anaeroban (12). Neki autori utvrdili su da je suzni film ispitanika sa suhim okom bio lužnatiji od istoga u zdravih osoba (49). Prema drugima, vrijednosti pH suza između tih dviju skupina ispitanika nisu se razlikovale (50). No, s obzirom na to da se uloga pH suza u patofiziologiji bolesti suhog oka još uvijek istražuje, mjerenje tog parametra rijetko se provodi u njezinoj rutinskoj dijagnostici.

### 1.1.2.7. Evaporacija suza

Evaporacija ili isparavanje označava prelazak površinskih molekula tekućine u plinovito stanje. Evaporacija vodene komponente suza osnovni je parametar u složenom mehanizmu destabilizacije suznog filma na površini rožnice. Njezina uvećana stopa skraćuje period u kojemu je suzni film stabilan nakon treptaja, a rezultat toga je hiperevaporativno suho oko. Ranije je smatrana pokazateljem stabilnosti i funkcije lipidnog sloja. No, prema novijim spoznajama, osim lipidnoga, i mukozni i vodeni sloj imaju važnu ulogu u njezinoj regulaciji. Količina suza koja ispari s površine oka u normalnim uvjetima različita je prema različitim autorima te se kreće u širokom rasponu od 0,4 do  $50 \times 10^{-7}$  g/cm/s (12). Kod osoba s urednom funkcijom suznog filma, evaporacijom se ukupno eliminira oko 8 % – 15 % suza, dok se kod osoba sa suhim okom ovim putem eliminira čak i do 50 % suza (51, 52). Bitno je znati da se kapanjem bilo kakve supstancije u oko remeti homeostaza suznog filma na način da se uvećava evaporacija te time skraćuje njegova stabilnost (53). Na evaporaciju utječu različiti unutarnji i vanjski čimbenici, npr. ženski spol, starija životna dob i ekspozicijske bolesti oka te suhi zrak, vjetrovito okruženje i sl.

### 1.1.3. DINAMIKA SUZA

#### 1.1.3.1. Sekretija suza

Sekretija suza regulirana je kompleksnim sustavom za kontrolu dinamike suza (LFU), koji je detaljno opisan u poglavlju 1.1.1. Ona može biti bazalna i refleksna. Bazalna sekretija suza je stalna, pravilna i prisutna tijekom sna. Refleksna sekretija stimulirana je fizikalnim, psihogenim ili svjetlosnim podražajima koji aktiviraju nociceptore rožnice, spojnice, vjeđa i nazalne spojnice te vidnog živca. Podražajima se aktivira aferentni put refleksnog luka koji završava eferentnom (simpatičkom i parasimpatičkom) inervacijom glavne suzne žlijezde, akcesornih suznih žlijezda, Meibomovih žlijezda i epitela, što rezultira sekretijom suza (54). Suzna je žlijezda prema ranijim vjerovanjima bila odgovorna za refleksnu sekretiju, a akcesorne za bazalnu. Sada se zna da sve suzne žlijezde podjednako sudjeluju u bazalnoj i refleksnoj sekretiji. Volumen suza u oku iznosi oko 7  $\mu$ l, bazalna proizvodnja suza iznosi 1 do 2  $\mu$ l/min, a refleksna ovisi o jačini podražaja (55). U uvjetima jačeg podražaja može biti i do 100 puta veća od bazalne (55). Osim refleksnog, drugi važan čimbenik regulacije sekretije suza je hormonalni. Peptidni hormoni, uključujući  $\alpha$ -melanocit stimulirajući hormon i adrenokortikotropni hormon, stimuliraju sekretiju proteina iz glavne suzne žlijezde. Steroidni hormoni, među kojima su najvažniji androgeni, stimuliraju sekretiju glavne suzne žlijezde i Meibomovih žlijezda. Stoga, manjak androgena rezultira deficitom i vodene i lipidne komponente suznog filma (27). Poznato je da je bolest suhog oka češća u žena i u osoba starije životne dobi, što se u velikoj mjeri pripisuje upravo deficitu androgena.

Distribucija suza na površini oka detaljno je opisana u poglavlju 1.1.2.1.

#### 1.1.3.2. Ekskrecija suza

U normalnom zdravom oku eliminacija suza najvećim dijelom obavlja se putem ekskretornog nazolakrimalnog sustava. Oko 15 % suza eliminira se evaporacijom, a najmanje apsorpcijom putem epitela spojnice i izvodnih kanalića (51, 56).

Ekskretorni nazolakrimalni sustav sastoji se od suznih punkta, gornjega i donjega te zajedničkog kanalikulusa, Rosenmüllerove valvule, suzne vrećice, nazolakrimalnog duktusa i Hasnerove valvule. Suze se izlučuju iz suzne žlijezde u gornji lateralni suzni menisk, odakle putuju inferomedijalno te putem suznih punkta ulaze u ekskretorni sustav. Dreniraju se

aktivnim (kontrakcijom orbikularnog mišića) i pasivnim (kapilarnim) transportom. Prilikom treptaja, kontrakcijom orbikularnog mišića, dolazi do kolapsa suznih kanalića i suzne vrećice, a pozitivan tlak potisne suze iz suzne vrećice u nazolakrimalni duktus. Rosenmüllerova valvula pritom sprečava povrat suza u zajednički kanalikulus. Nakon što se orbikularis relaksira, nastane negativan tlak u kanalikulusima i suznoj vrećici, što omogućuje aspiraciju suza preko punkta u kanalikuluse te iz kanalikulusa u suznu vrećicu (56). Sekrecija suza iznosi oko 1 – 2  $\mu\text{l}/\text{min}$ , no može se povećati i do 100 puta (55). Ako takvo povećanje ne nastupi naglo, suze se u cijelosti dreniraju putem suznih kanalića u nos. Jači podražaj i naglo povećanje lakrimacije rezultira prelijevanjem suza preko ruba vjeđa.

## 1.2. BOLEST SUHOG OKA

Suho oko je stanje koje značajno narušava kvalitetu života. Kad se jednom dijagnosticira, ono prati osobu do kraja života. Prema podacima iz literature oko pet milijuna osoba starijih od 50 godina u SAD-u boluje od ove bolesti, dok gotovo svaka druga ili treća ima neke, stalne ili periodične, manifestacije ovog stanja (2, 57). U zadnjih 30 godina značajno je porasla svijest o bolesti suhog oka širom svijeta. S jedne strane, jasno je da se radi o poremećaju pandemijskih razmjera, a s druge, zbog složenosti njezine etiologije, patofiziologije, dijagnostike i liječenja, znanstvena zajednica još uvijek nema odgovore na brojna pitanja. Naporima brojnih organizacija i radnih skupina širom svijeta do danas, predložen je čitav niz njezinih definicija, no općeprihvaćene definicije još uvijek nema.

Suho oko kao klinički pojam potječe iz 1903. godine, a prvi ga je upotrijebio Schirmer, izumitelj poznatog Schirmer testa koji je još uvijek u rutinskoj primjeni (58). Sjögren je 1933. godine definirao pojam Keratoconjunctivitis sicca (59). Suho oko označavalo je stanje deficita količine suza, ponajprije vodenog sloja. Danas se ono klasificira kao bolest očne površine koja je uzrokovana ne samo deficitom količine suza, nego i njihovom lošijom kvalitetom. Pritom gubitak funkcije bilo kojeg od njegovih slojeva, bilo da se radi o deficitu količine bilo kvalitete tog sloja, rezultira nastankom te bolesti.

Pojam suho oko, iako je to patofiziološki neprikladno, i dalje se zbog svoje praktičnosti često upotrebljava kao sinonim za tu bolest površine oka. Tako je i u ovom radu.



### 1.2.1. DEFINICIJA BOLESTI SUHOG OKA

Osnovna je uloga definicije bolesti suhog oka usmjeriti kliničare k ispravnoj dijagnostici, praćenju i liječenju svojih bolesnika. Do današnjeg dana ista je prošla brojne izmjene te ih je predloženo nekoliko:

Prvu definiciju bolesti suhog oka predložila je Radna skupina za suho oko (engl. *NEI/Industry Workshop*) još 1995. godine i ona je glasila:

*Dry eye is a disorder of the tear film due to tear deficiency or excessive tear evaporation which causes damage to the interpalpebral ocular surface and is associated with symptoms of ocular discomfort. (Suho oko je poremećaj suznog filma koji nastaje zbog pomanjkanja suza ili pretjerane evaporacije suza što izaziva oštećenje interpalpebralnog dijela površine oka i povezan je sa simptomima očne nelagode.)* (6)

Horst Brewitt je 2001. godine u svojoj definiciji prvi put istaknuo nestabilnost suznog filma kao temeljni mehanizam nastanka bolesti suhog oka, a osim kvantitete, naglasak je bio i na lošijoj kvaliteti suza:

*Suho oko je bolest površine oka koja se može pripisati različitim poremećajima prirodne funkcije i zaštitnog mehanizma vanjskog oka, što dovodi do nestabilnoga suznog filma pri otvorenom oku.* (35)

Delphi panel-grupa 2006. godine predložila je novi naziv za suho oko – "sindrom disfunkcije suza" – ističući oboje – lošiju kvalitetu i kvantitetu suza kao glavne značajke (60).

Trogorodišnjim radom Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) 2007. iznesena je nova definicija bolesti suhog oka koja je dugi niz godina bila najprihvaćenija (3). TFOS DEWS Report (2007):

*Dry eye is a multifactorial disease of the tears and ocular surface that results in symptoms of discomfort, visual disturbance, and tear film instability, with potential damage to the ocular surface. It is accompanied by increased osmolarity of the tear film and inflammation of the ocular surface. (Suho oko je multifaktorijska bolest suza i površine oka koja rezultira simptomima neudobnosti, poremećaja vida te nestabilnosti suznog filma, s*

*mogućim oštećenjem površine oka. Popraćena je povišenom osmolarnošću suznog filma te upalom površine oka.) (3)*

Ova definicija označavala je značajan napredak u shvaćanju patofiziologije bolesti suhog oka. Ona je istaknula da je suho oko složene etiologije te da je to bolest čitave površine oka. Vidni poremećaji, zajedno sa simptomima, središnje su značajke bolesti, a njihova je prisutnost glavni kriterij u dijagnostici suhog oka. Naime, bez simptoma nema ni suhoga oka. Definicijom je, također, istaknuto da je suho oko posljedica lošije kvalitete suznog filma koji je hiperosmolaran i nestabilan te kao takav nedostatno štiti strukture očne površine i izaziva njihovu upalu i oštećenje.

Azijsko društvo za suho oko (ADES) 2016. godine predložilo je svoju definiciju suhog oka (5).

ADES Report (2016):

*Dry eye is a multifactorial disease characterized by unstable tear film causing a variety of symptoms and/or visual impairment, potentially accompanied by ocular surface damage. (Suho oko je multifaktorijalna bolest karakterizirana nestabilnim suznim filmom što rezultira pojavom raznih simptoma i/ili vidnih poremećaja, te može biti popraćena oštećenjem očne površine.). (5)*

U ovoj definiciji nestabilnost suznog filma temeljni je mehanizam nastanka svih oblika bolesti suhog oka te se ističe kao najvažniji znak u njezinoj dijagnostici.

Od 2007. godine, kada je donesena prva definicija Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) pa sve do danas, mnogo je novoga otkriveno na području etiologije, patofiziologije, dijagnostike i liječenja suhog oka. To je rezultiralo donošenjem nove, revidirane definicije te radne skupine krajem 2017. godine, koja je trenutno na snazi.

TFOS DEWS II Report (2017):

*Dry eye is a multifactorial disease of the ocular surface characterized by a loss of homeostasis of the tear film, and accompanied by ocular symptoms, in which tear film instability and hyperosmolarity, ocular surface inflammation and damage, and neurosensory abnormalities play etiological roles. (Suho oko je multifaktorijalna bolest očne površine karakterizirana gubitkom homeostaze suznog filma, koja je popraćena prisutnošću očnih*

*simptoma, i u kojoj nestabilnost suznog filma i hiperosmolarnost, upala i oštećenje očne površine te neurosenzorne abnormalnosti igraju najvažniju ulogu.*). (4)

Predložen je i novi temeljni koncept nastanka bolesti suhog oka, gubitak homeostaze suznog filma. Simptomi i dalje ostaju središnja značajka, no procjena znakova, ponajprije stabilnosti i osmolarnosti suznog filma, prijeko je potrebna u ispravnoj dijagnostici bolesti.

Iz navedenog proizlazi da sve važeće definicije bolesti suhog oka ističu simptome, skupa sa smanjenom stabilnošću i hiperosmolarnošću suznog filma, kao temeljne pokazatelje suhog oka. Stoga bi njihova procjena trebala biti osnova pouzdane dijagnostike te bolesti. Isto tako, činjenica je da se područje patofiziologije bolesti suhog oka i dalje intenzivno istražuje pa je njezina definicija izložena stalnim promjenama, a one općeprihvaćene još uvijek nema.

## 1.2.2. PODJELA BOLESTI SUHOG OKA

Poremećaj ravnoteže između sekrecije i evaporacije vodene komponente suznog filma temelj je za podjelu bolesti suhog oka na dva osnovna podtipa. Oni se prema mehanizmu nastanka u potpunosti razlikuju, no u kliničkim značajkama znatno se podudaraju te često koegzistiraju (3 – 4, 6, 27):

1. Hiperevaporativno suho oko (engl. *Evaporative dry eye*; EDE)
2. Hiposekrecijsko suho oko (engl. *Aqueous deficient dry eye*; ADDE).

### 1.2.2.1. Hiperevaporativno suho oko

Hiperevaporativno suho oko rezultat je povećane evaporacije suza uz normalnu sekreciju vodene komponente. Osnovnim uzrokom ovog podtipa bolesti suhog oka smatra se disfunkcija Meibomovih žlijezda (engl. *Meibomian gland dysfunction*; MGD) i lipidnog sloja suza (23). Promijenjen lipidni metabolizam u žlijezdama izaziva tranziciju nezasićenih masnih kiselina u zasićene, čime se mijenja sastav meibuma. Takav meibum opstruira ušća Meibomovih žlijezda što onemogućuje urednu sekreciju lipida u suzni film. Posljedično, formira se lipidni sloj koji je tanak i disfunkcionalan što rezultira povećanom evaporacijom vodenog sloja te nastankom simptoma i znakova bolesti suhog oka (16, 27).

Simptomi koje pacijenti navode su: osjećaj pečenja, osjećaj stranog tijela u oku, prisutnost crvenila rubova vjeđa i spojnice te mutan vid. Smetnje su najizraženije u jutarnjim satima.

Brojni su unutarnji i vanjski čimbenici koji rezultiraju nastankom hiperevaporativnog suhog oka: disfunkcija Meibomovih žlijezda, abnormalan položaj vjeđa, manja učestalost treptanja pri radu na računalu, primjena nekih sistemskih i lokalnih lijekova, nedostatak vitamina A, nošenje kontaktnih leća te ostale bolesti površine oka, primjerice alergija. (16, 27).

#### 1.2.2.2. Hiposekrecijsko suho oko

Hiposekrecijsko suho oko rezultat je smanjene sekrecije suza uz prisutnost normalne evaporacije vodene komponente. Smanjena sekrecija suza posljedica je oštećenja suzne žlijezde upalom ili involutivnim promjenama što izaziva njezinu disfunkciju u sekreciji vodene komponente. Pacijenti s ovim tipom suhog oka pretežno se žale na osjećaj pečenja, grebanja i nelagode u oku, zamućenje vida i fotofobiju, a intenzitet smetnja povećava se pri kraju dana.

Hiposekrecijsko suho oko dijeli se na suho oko u sklopu Sjögrenova sindroma i ne-Sjögrenovo hiposekrecijsko suho oko (16, 27).

*Sjögrenov sindrom* je kronična autoimuna bolest karakterizirana upalom i oštećenjem egzokrinih žlijezda (61). Njegova prevalencija u općoj populaciji iznosi 0,6 % – 1 %. Češće se javlja u žena, a omjer oboljelih žena i muškaraca je 9 : 1. Smatra se da važnu ulogu u etiologiji imaju spolni hormoni, androgeni i estrogeni. Ciljni organi u Sjögrenovu sindromu su suzna žlijezda i žlijezde slinovnice, a pacijenti se uglavnom žale na suha usta i suho oko. Primarni sindrom javlja se izolirano dok sekundarni nastaje u sklopu sistemnog eritematoznog lupusa, reumatoidnog artritisa ili Wegenerove granulomatoze. Očni simptomi često su intenzivni, a među učestalijima su osjećaj grebanja, stranog tijela, nelagode i zamućenja vida.

*Ne-Sjögrenovo hiposekrecijsko suho oko.* Najčešći uzrok hiposekrecijskog suhog oka su involutivne promjene suzne žlijezde koje rezultiraju njezinom disfunkcijom te time smanjenom proizvodnjom vodene komponente suznog filma. Ostali su uzroci: kongenitalna disfunkcija suzne žlijezde, kongenitalna ili stečena opstrukcija izvodnih kanalića, oštećenje refleksnog luka koji kontrolira sekreciju suza te uzimanje nekih lijekova (16).

I konačno, premda postoje i druge podjele bolesti suhog oka, podjelu ovdje opisanu, donijela je 1996. godine Radna skupina za suho oko (*NEI / Industry Workshop*) te je najprihvaćenija i najprimjenjivana u istraživačkom i kliničkom radu oftalmologa (6).

### 1.2.3. PATOLOGIJA BOLESTI SUHOG OKA

Kod bolesti suhog oka nestabilan i hiperosmolaran suzni film, tj. suzni film lošije kvalitete, izaziva stres površinskog epitela struktura očne površine. To dovodi do otpuštanja medijatora upale koji oštećuju čvrste sveze (engl. *tight junctions*) među površinskim epitelnim stanicama. Oštećenjem epitelne obrambene barijere omogućuje se infiltracija limfocita T u epitel, pokreće se proizvodnja upalnih citokina, faktora nekroze tumora (engl. *tumor necrosis factor*; TNF), interleukina 1 $\alpha$  i 1 $\beta$  (IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ ) te matriks metaloproteinaze 9. Smanjuje se sekrecija proteina glikokaliksa i mukoznog sloja, nastupa apoptoza epitelnih i Gobletovih stanica, smanjuje hidratacija očne površine što izaziva dodatnu nestabilnost i hiperosmolarnost suznog filma te se time zatvara začarani krug (lat. *circulus vitiosus*) (16, 27).

### 1.2.4. PREVALENCIJA I INCIDENCIJA BOLESTI SUHOG OKA

Epidemiološki podatci o prevalenciji i incidenciji bolesti suhog oka nepouzdana su iz više razloga. U epidemiološkim studijama korištene metode, kriteriji i definicije nisu bili usklađeni, a ispitanici su se značajno razlikovali prema dobi, spolu, nacionalnosti, stilu života te čimbenicima okoline. Nadalje, neke su se studije temeljile na procjeni simptoma bolesti suhog oka dok su druge istraživale njezine kliničke znakove. Posljedični učinak je da se dobiveni podatci kreću u širokim rasponima, nisu usporedivi i njihova je interpretacija otežana.

Prema metaanalizama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II) iz 2007. i 2017. prevalencija simptoma bolesti suhog oka u općoj populaciji osoba starijih od 50 godina bila je 5 % – 30 % te 5 % – 50 % (2, 57). Drugim riječima, svaka druga ili treća osoba imala je neke manifestacije te bolesti. Među višim prevalencijama ona je utvrđena u studijama provedenima u jugoistočnoj Aziji, a iznosila je 20 % do 52,4 % (62 – 65). Prevalencija simptoma suhog oka u Španjolskoj je iznosila 18 % (66), a u SAD-u 14 % (67).

U Engleskoj se ista kretala oko 20 % (68), dok je u Francuskoj bila 40 %, a u Iranu oko 19 % (69). Većina je studija utvrdila da je prevalencija simptoma za 1,3 – 1,75 puta veća u žena nego u muškaraca (66 – 67, 69 – 70). Ispitanici u navedenim studijama uglavnom su bili stariji od 40 godina. Samo dvije studije ispitivale su prevalenciju simptoma u mlađih ispitanika, u dobi od 20 do 40 godina, i ona je iznosila između 10 % i 20 % (67, 68). Iz navedenoga proizlazi da su žene, Azijati i osobe starije životne dobi češće navodile simptome bolesti suhog oka nego muškarci, bijelci i mlađe osobe iako je i nemali broj mlađih osoba i bijelaca imao iste smetnje.

Rezultati prevalencije temeljene na kliničkim znakovima pokazali su još veću heterogenost i nekonzistentnost nego oni temeljeni na simptomima suhog oka. Tako je prevalencija suhog oka temeljena na nalazu TBUT-a kraćeg od 10 sekunda iznosila od 15 % do čak 85 %, te Schirmer testa nižeg od 5 mm 20 % – 60 % (65 – 67, 70 – 71). Posljedica je to nedostatka standardiziranog načina provođenja dijagnostičkih metoda i heterogenosti ispitivanih skupina.

Incidencija suhog oka manje se istraživala od prevalencije, čemu svjedoči i puno manji broj objavljenih radova. Među njima se ističe The Beaver Dam Eye, studija incidencije suhog oka, provedena na 8650 Amerikanaca životne dobi od 48 do 91 godine. Studija je objavila da je 13,3 % ispitanika razvilo simptomatsko suho oko u razdoblju od pet godina, tj. 21,5 % u razdoblju od deset godina. Incidencija je bila puno veća u žena (25 %) nego u muškaraca (17 %), a osim spola, starija životna dob bila je glavni prediktor za nastanak bolesti (72).

Unatoč brojnosti epidemioloških studija i činjenici da je suho oko bolest pandemijskih razmjera te da svaka druga ili treća osoba u općoj populaciji ima neke, stalne ili periodične, manifestacije tog stanja, treba naglasiti njihove nedostatke. Rezultati studija uglavnom nisu usporedivi jer one nisu koristile usklađene metode ni kriterije dijagnostike suhog oka. Također, epidemiološke studije, koje su koristile simptome suhog oka, imale su postojanije rezultate nego one koje su koristile znakove bolesti.

### 1.3. DIJAGNOSTIKA BOLESTI SUHOG OKA

Osnova opravdane dijagnostike bolesti suhog oka nalazi se u njezinim definicijama, a temelji se na procjeni njezinih simptoma i kliničkih znakova (3 – 5, 35). Suho oko je simptomatska bolest te je često na prvome mjestu procjena njezinih simptoma. Kao što je to i u drugim granama medicine, tako je i u oftalmologiji; kamen temeljac pouzdane i točne dijagnostike je detaljno uzeta anamneza, a da bi se simptomi suhog oka mogli kvantificirati, koriste se brojni upitnici. S druge strane, simptomi su subjektivni, njihov doživljaj je individualan te je nemoguće isključivo njima objektivizirati stanje, detektirati bolest i pratiti uspjeh liječenja. Zbog toga je prijeko potrebna procjena kliničkih znakova suhog oka kao objektivnih pokazatelja bolesti. No, koji su znakovi relevantni za dijagnostiku suhog oka i kako ih pouzdano mjeriti? Definicije ističu da su to nestabilnost i hiperosmolarnost suznog filma pa se u literaturi nalazi opis niza metoda za njihovu procjenu, kao i za procjenu upalnih parametara i oštećenja struktura očne površine. Testova je mnogo, a problem često leži ne samo u odabiru testa nego i u odabiru najboljeg načina provođenja odabranog testa. Nadalje, velik broj testova za procjenu znakova koristi komplicirane i skupe uređaje. To ne samo da umanjuje praktičnost izvođenja tih metoda nego ih čini nedostupnima širem krugu oftalmologa. Od dostupnih testova danas se najčešće provodi standardni invazivni test pucanja suznog filma (engl. *Tear break-up time*; TBUT). No, taj test je invazivan, remeti homeostazu suznog filma te se smatra nedovoljno pouzdanim u dijagnostici suhog oka (7 – 11).

Ono što je potrebno u modernoj dijagnostici bolesti suhog oka, s obzirom na njezine pandemijske razmjere, jest dostupnost, jednostavnost i neinvazivnost pouzdanih metoda njezine detekcije koje su pristupačne svim oftalmolozima i pacijentima na rutinskoj razini. Za sada, nažalost, nije pronađen ni jedan test kojim se može samostalno, na pouzdan i točan način, postaviti dijagnoza *bolest suhog oka*. Testova ima mnogo, a svaki od njih mjeri jedan dio složenoga patofiziološkog procesa te bolesti (73). Stoga je pravilno koristiti bateriju testova. Pritom treba paziti da se testovi provode onim redosljedom kojim će minimalno utjecati jedan na drugoga, najčešće od najmanje invazivna prema najinvazivnijem.

### 1.3.1. ANAMNEZA

Anamneza je najvažniji dio dijagnostičkog postupka u medicini te se mnoge bolesti mogu dijagnosticirati već na temelju dobro uzete anamneze. Anamneza je vodilja u evaluaciji oftalmološkog pacijenta koja usmjerava daljnjim dijagnostičkim postupcima. Štoviše, na temelju anamnestičkih podataka može se procijeniti o kojem podtipu suhog oka se radi, što je važno u liječenju i daljnjem praćenju (74).

Bolest suhog oka najčešće je povezana s nizom karakterističnih simptoma (25, 75 – 78). *Osjećaj pečenja u očima* simptom je koji se smatra posljedicom hiperosmolarnosti suznog filma. *Osjećaj stranog tijela ili osjećaj pijeska u očima* povezuje se s deficitom vodene komponente i najčešće upućuje na teži oblik suhog oka. *Osjećaj suhoće ili grebanja u očima* te *neugodan osjećaj pri treptanju* također se povezuje s deficitom vodene komponente. *Suzenje oka* najčešća je posljedica nepovoljnih uvjeta u okolini (niska vlažnost zraka, klimatizacija, vjetroviti uvjeti) te se povezuje s deficitom lipidnog sloja, isto kao i *osjećaj iritacije očiju nakon buđenja*. *Sasušeni sekret na rubovima vjeđa* upućuje na MGD. *Fotofobija* je posljedica oštećenja struktura očne površine, a u težim slučajevima prisutna je i *bol u oku* koja se javlja pri većim epitelnim defektima. *Mutan vid* tipičan je za sve oblike bolesti suhog oka, a posljedica je iregularnosti površine suznog filma.

Nadalje, kod bolesti suhog oka simptomi i znakovi često slabo koreliraju (79 – 82). Pacijenti koji imaju blaže simptome ili ih uopće nemaju, često imaju izražene kliničke znakove, a pacijenti koji imaju granično pozitivne znakove žale se na intenzivnije smetnje.

Kada bi se simptomi dijelili prema podtipu bolesti suhog oka, moglo bi se reći da su osjećaj pečenja i stranog tijela u oku, prisutnost crvenila rubova vjeđa i spojnice te mutan vid češći kod deficita lipidnog sloja u hiperevaporativnom suhom oku. Ti su simptomi intenzivniji u jutarnjim satima, nakon buđenja. S druge strane, osjećaj pečenja i suhoće u oku, fotofobija i zamućen vid češći su u hiposekrecijskom suhom oku (deficit vodene komponente), a pogoršavaju se pri kraju dana. Nepovoljni uvjeti u okolini (niža relativna vlažnost zraka, visoka temperatura zraka zimi u zagrijanim prostorima te vjetroviti uvjeti) i uvjeti rjeđeg treptanja (rad na računalu), pojačavaju intenzitet smetnja u obama podtipovima (16).



### 1.3.2. UPITNICI

S obzirom na to da simptomi i znakovi bolesti suhog oka međusobno slabo koreliraju, kvantifikacija i praćenje težine bolesti isključivo procjenom objektivnih znakova nije dostatna. Stoga u dijagnostici suhog oka upitnici imaju veoma važnu ulogu. Postoji čitav niz upitnika koji su kreirani radi detekcije i stupnjevanja težine bolesti suhog oka, procjeni progresije i odgovora na terapiju. Oni kvantificiraju odgovore numeričkim ili grafičkim skalama te se koriste različitim brojem pitanja. Mjere težinu simptoma suhog oka te učinak simptoma na vidnu funkciju i na obavljanje dnevnih aktivnosti (vožnja, čitanje, rad na računalu, gledanje televizora). No, ipak, njihova je uloga limitirana iz više razloga. Doživljaj simptoma je subjektivan, ovisan o individualnim varijacijama, pragu boli, psihogenim faktorima, osjetljivosti struktura očne površine na podražaj te ih je nemoguće objektivizirati. Također, postoji velik broj osoba s disfunkcijom suznog filma bez simptoma ili blagim simptomima suhog oka te prisutnim znakovima bolesti. U dijagnostici bolesti suhog oka stoga je pravilno kombinirati upitnik i procjenu objektivnih znakova u stupnjevanju njezine težine i praćenju odgovora na liječenje. U nizu upitnika postavlja se pitanje – koji odabrati. Današnje smjernice predlažu nekoliko upitnika jer jedan jedinstven, idealan i najprihvaćeniji za sada ne postoji.

***Ocular Surface Disease Index (OSDI)*** upitnik je koji obuhvaća šest pitanja. Pitanja se odnose na vidne smetnje (zamućen i loš vid) te vidnu funkciju (problemi s čitanjem, noćna vožnja, rad na računalu, gledanje televizora). Simptomi se kvantificiraju numeričkom skalom od 0 do 4; 0 – simptoma nema, 4 – simptomi su jako izraženi. Ukupan broj bodova može biti od 0 do 100, veći od 10 indikativan je za suho oko, a što je veći to je oblik bolesti suhog oka teži (83).

***Dry Eye Questionnaire (DEQ-5)*** obuhvaća pet pitanja vezanih uz prisutnost simptoma suhog oka, njihovu težinu te doba dana u kojem su simptomi najizraženiji. Ovim upitnikom može se izdiferencirati podtip bolesti suhog oka. Kvantificira se numeričkom skalom od 0 do 4. Ukupan broj bodova veći od 6 tipičan je za suho oko, a zbroj veći od 12 prisutan je kod težih oblika, npr. Sjögrenova sindroma (84).

***Impact of Dry Eye on Everyday Living (IDEEL)*** upitnik ima dvije cjeline. Ispitanik opisuje kojom mjerom smetnje poput zamućenja vida, osjetljivosti na svjetlo, svjetlaca,

bljeskova te nepovoljnih okolišnih uvjeta remete njegove svakodnevne aktivnosti. Brojna istraživanja utvrdila su statistički značajnu razliku u ukupnom zbroju bodova u ovom upitniku među pacijentima sa suhim okom i kontrolnom skupinom (85).

*National Eye Institute's Visual Function Questionnaire (NEI VFQ-25)* ispituje funkciju vida u sedam domena: opća kvaliteta vida, vid na daljinu, periferni vid, vožnja, vid na blizinu, kolorni vid i bolovi u oku. Pacijenti sa suhim okom imaju manji ukupan zbroj NEI VFQ-25 bodova (86).

*Dry Eye - Related Quality-of-life Score (DEQS)* stvoren je u Japanu. Ovaj je upitnik sličan NEI VFQ-25 upitniku, a ispituje vidnu funkciju u četirima domenama: bol u oku, kvaliteta vida na blizinu i na daljinu te mentalno zdravlje (87).

*Computer – Vision symptom scale (CVSS17)* koristi se u kvantifikaciji smetnji tijekom rada na računalu (88).

*Scheinov upitnik* sastoji se od šest pitanja vezanih uz učestalost simptoma bolesti suhog oka. Simptomi se graduiraju numeričkom skalom od 0 (nikada) do 4 (stalno). Vrlo je praktičan i stoga se često koristi u radu s pacijentima (89, 90). Obuhvaća sljedeća pitanja:

- Pitanje 1. Imate li ikada osjećaj suhoće u očima?
- Pitanje 2. Imate li ikada osjećaj pijeska u očima?
- Pitanje 3. Imate li ikada osjećaj pečenja u očima?
- Pitanje 4. Jesu li Vam oči ikada crvene?
- Pitanje 5. Imate li krustice na trepavicama?
- Pitanje 6. Je li Vam teško otvoriti oči ujutro?

### 1.3.3. FUNKCIONALNI TESTOVI

#### 1.3.3.1. Uloga suznog filma u vidnoj funkciji

Stabilan suzni film nužan je za urednu vidnu funkciju (1). Prva i najjača lomna površina upadnih zraka svjetlosti u oko je ona između zraka i suznog filma te je ona najznačajnija za ukupnu lomnu jakost rožnice i cjelokupnu lomnu jakost oka. Indeks loma

suznog filma iznosi 1,337, a zakrivljenost njegove površine u prosjeku je oko 43 dioptrije. Za usporedbu, cjelokupna lomna jakost oka je 60 dioptrija. Da bi vid bio kvalitetan, površina oka mora biti glatka, ravna, pravilna i prozirna. Nestabilan suzni film stvara lokalizirane nepravilnosti na toj površini, varijacije u njezinoj zakrivljenosti i varijacije u lomnoj jakosti oka što dovodi do optičkih aberacija višeg stupnja. Valne aberacije smanjuju kontrastnu osjetljivost oka, izazivaju pojavu disfotopsija, svjetlaca, bljeskova, haloa te time narušavaju kvalitetu vida (91, 92). Istraživanja su pokazala da se kod ispitanika s disfunkcijom suznog filma valne aberacije višeg stupnja javljaju u većoj mjeri nego kod ispitanika sa stabilnim suznim filmom (46). Utjecaj nestabilna suznog filma na vidne poremećaje istaknut je i u definicijama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) te Azijskog društva za suho oko (ADES): *Suho oko je multifaktorijalna bolest suza i površine oka koja rezultira simptomima neudobnosti, poremećaja vida...* (3). *Suho oko je multifaktorijalna bolest karakterizirana nestabilnim suznim filmom što rezultira pojavom raznih simptoma i/ili vidnih poremećaja...* (4).

No, pitanje je, kako je moguće održavati suzni film neprestano stabilnim, a time i vid kvalitetnim? Odgovor je – treptanjem. Nakon što osoba trepne, suzni film ostaje stabilan nekoliko desetaka sekunda. Potom se na njegovoj površini javljaju nepravilnosti, a time i optičke aberacije. U normalnim uvjetima osoba trepne jednu sekundu prije pojave aberacija održavajući vid jasnim (93). Kod uredna suznog filma osoba prosječno trepne 15 puta u minuti, dok ona sa suhim okom trepće češće da bi nadoknadila njegovo brzo pucanje te time poboljšala i očuvala vidnu oštrinu (94).

### 1.3.3.2. Mjerenje funkcionalne vidne oštrine

Funkcionalna vidna oštrina potrebna je u obavljanju svakodnevnih aktivnosti: čitanju, radu na računalu, vožnji, gledanju televizora i sl. Prvi su je mjerili Goto i sur. u periodu između treptaja (95). Ispitanici su promatrali optotip (slovo ili broj) na ploči za ispitivanje vidne oštrine pri čemu su bili zamoljeni da ne trepću u trajanju od 10 do 20 sekunda. Ispitanicima sa stabilnim suznim filmom u tom periodu slika promatranog optotipa nije se zamutila, dok se onima s disfunkcijom suznog filma, zbog njegova brza pucanja na površini oka, zamutila. U svrhu standardizacije testa Ishida i sur. razvili su složen matematički sustav (engl. *Functional visual acuity measurement system*; FVAM) kojim se mjerila funkcionalna vidna oštrina u intervalu od 30 sekunda između treptaja (96). Rezultati su pokazali da su

ispitanici s disfunkcijom suznog filma optotip jasno vidjeli u periodu od  $8,75 \pm 6,6$  sekunda nakon treptaja, dok je u onih s urednom funkcijom suznog filma period jasna vida bio puno dulji –  $19,46 \pm 15,97$  sekunda. Vrijednosti ovog testa korelirale su s neinvazivnim testom pucanja suznog filma. Mnogo jednostavniji i pristupačniji je Test perioda vremena u kojem dolazi do zamućenja linije najbolje korigirane vidne oštine od otvaranja oka (engl. *Post-Blink Blur Time*; PBBT) autora Petričeka I. (25). Njime se mjeri period u kojem dolazi do zamućenja optotipa na ploči za ispitivanje vidne oštine od trenutka otvaranja oka. Petriček je u svojoj doktorskoj disertaciji prikazao da je PBBT kod ispitanika sa simptomima disfunkcije suznog filma iznosio 7 sekunda, a u kontrolnoj skupini 10 sekunda.

Iz navedenog proizlazi da trenutak u kojem se zamuti slika promatranog optotipa korelira s trenutkom destabilizacije suznog filma na površini oka te se može pretpostaviti da bi i vrijednosti testova za procjenu funkcionalne vidne oštine mogle korelirati s vrijednostima onih za procjenu stabilnosti suznog filma. Istraživanja će u budućnosti možda to i potvrditi.

#### 1.3.4. PREGLED VJEĐA

Vjeđe i njihova uredna funkcija jedan su od osnovnih preduvjeta za očuvanje homeostaze očne površine i suznog filma. Tarzalna spojnica vjeđa je, zajedno s rožnicom, bulbarnom spojnicom i Meibomovim žlijezdama, dio očne površine koja je kontinuirano obložena suznim filmom. Vjeđama trepćemo, a treptanje je potrebno za urednu funkciju suza i kvalitetu vida (12). Treptanjem se distribuiraju suze na površini oka i istiskuju lipidi iz Meibomovih žlijezda. To je važno za uredno formiranje i održavanje suznog filma stabilnim, štiti oko od negativnih vanjskih utjecaja te potpomaže u uklanjanju debrisa iz oka. Konačno, ono je iznimno važno za kvalitetan i jasan vid. Učestalost treptanja u normalnim uvjetima iznosi  $15,5 \pm 13,7$  u minuti (97). Za vrijeme dugotrajna rada na računalu te nošenja kontaktnih leća trepće se puno rjeđe, prosječno  $5,3 \pm 4,5$  puta u minuti. To rezultira nastankom simptoma i kliničkih znakova suhog oka te mutnijeg vida, što je opisano u poglavljima 1.1.2.3. i 1.3.3.2. Funkcija suza može biti narušena i pri urednoj frekvenciji treptanja ako je treptaj nepotpun, tj. ako gornja vjeđa ne dosegne donju, što se detektira vodoravnom tamnom linijom u fluoresceinu na površini rožnice koja predstavlja najniži položaj vjeđe prilikom treptaja. To se vidi često u nositelja kontaktnih leća.

Osim subjektivnim metodama, analiza treptanja može se obaviti i objektivno, kamerom (engl. *high speed video*) koja je dostupna i putem mobilne aplikacije (11).

Abnormalan položaj vjeđe, izvrtanje ili uvrtnje ruba vjeđe te povećan vjeđni rasporek također mogu narušiti integritet suza i očne površine te najčešće zahtijevaju kiruršku korekciju. Procjena položaja vjeđa obavlja se u fokalnom osvjetljenju prilikom pregleda procijepnom svjetiljkom.

#### 1.3.4.1. Pregled ruba vjeđe

Pregled ruba vjeđe obavlja se makroskopski ili na procijepnoj svjetiljci, a koristi se u procjeni funkcije Meibomovih žlijezda (97 – 99). Pri pregledu je važno obratiti pozornost na rub vjeđe, trepavice i ušća Meibomovih žlijezda. Tim se pregledom na vrlo jednostavan način može izdiferencirati podtip bolesti suhog oka. Kod hiperevaporativnog podtipa morfologija je Meibomovih žlijezda promijenjena. Vjeđni rub je hiperemičan, iregularan, na njemu se mogu vidjeti teleangiektazije koje okomito prelaze preko ruba. Ušća Meibomovih žlijezda su ispučena, na površini imaju keratinski čep, a njihovom ekspresijom meibum izlazi otežano, viskozno je i mutan te ima konzistenciju paste.

#### 1.3.4.2. Ekspresija Meibomovih žlijezda

Ekspresija Meibomovih žlijezda ubraja se u invazivne metode pregleda suznog filma. Ona služi za procjenu sekrecije lipida iz vjeđa te neizravnu procjenu funkcije lipidnog sloja. Parametri kojima se opisuje funkcija Meibomovih žlijezda su količina i kvaliteta meibuma te njegova ekspresibilnost. Sekrecija i ekspresibilnost lipida smanjeni su ili patološki promijenjeni kod hiperevaporativnog suhog oka, a rezultat su MGD-a. Ekspresija se obavi pritiskom palca ili standardiziranim pritiskom specijaliziranoga kalibriranog uređaja na rub srednje trećine donje vjeđe (98, 99). Rezultat testa graduira se skalom od 0 do 3, ovisno o izgledu i količini istisnutoga sekreta: 0 – bistar, 1 – mutan, 2 – pjenušav, 3 – poput paste (99).

#### 1.3.4.3. Meibografija

Meibografija omogućuje izravnu procjenu morfologije Meibomovih žlijezda (99). Obavlja se na procijepnoj svjetiljci opremljenoj infracrvenom kamerom i infracrvenim filtrom na način da se snima tarzalna strana vjeđe u everziji. Njome je moguće vizualizirati žlijezde

čitavom dužinom kroz tarzus. Rezultat se gradiira grafičkom skalom od 0 (uredan broj aktivnih žlijezda) do 3 (gubitak broja aktivnih žlijezda za 2/3) (100). Djelomičan ili potpun gubitak žlijezda tipičan je za starenje i MGD.

#### 1.3.4.4. Meibometrija

Meibometrija je metoda procjene volumena lipida na rubu vjeđe (101). Obavlja se uz pomoć trakica koje se prislone na srednju trećinu ruba donje vjeđe. One su pričvršćene za procijepnu svjetiljku na držaču prizme aplanacijskog tonometra. Doticanjem ruba donje vjeđe izlučeni lipidi mijenjaju izgled trakice tako da se povećava njezina transparentnost; što je lipida više, trakica je prozirnija i veća je transmisija svjetla kroz nju. Meibometrija se može koristiti za diferencijaciju podtipa bolesti suhog oka. Smanjeni volumen lipida patološki je nalaz, a posljedica je MGD-a i hiperevaporativnog suhog oka. Kod hiposekrecijskog suhog oka količina lipida je uredna. Ovom metodom mjeri se sekrecija lipida iz samo nekoliko žlijezda u određenom trenutku pa ona nije dobar pokazatelj njihove cjelokupne funkcije.

### 1.3.5. PREGLED STRUKTURA OČNE POVRŠINE

#### 1.3.5.1. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe

Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (engl. Lid Parallel Conjunctival Folds; LIPCOF) opisani su prvi put u radu Höha i sur. (102). Nalaze se i analiziraju u donjem temporalnom kvadrantu spojnice očne jabučice, a prate tok ruba donje vjeđe. Smatra se da nastaju zbog povećana trenja između vjeđe i očne jabučice prilikom treptanja, a rezultat su deficita mukoznog sloja. Dobar su pokazatelj suhog oka s osjetljivosti i specifičnosti od 70 % i od 91 % (103). To je jednostavna, brza i neinvazivna metoda koja se obavlja uz pomoć procijepne svjetiljke, a nalaz se gradiira skalom od 0 do 3. Mane su joj subjektivnost, nespecifičnost za različite oblike bolesti suhog oka i nedovoljna preciznost zbog pregrube gradacije.

**Stupnjevi LIPCOF-a prema Höhu (102):**

Stupanj 0: nema nabora

Stupanj 2: dva paralelna nabora

Stupanj 1: jedan paralelni nabor

Stupanj 3: više od dvaju paralelnih nabora.

### 1.3.5.2. Bojenje vitalnim bojama

Bojenje vitalnim bojama standardna je i rutinska metoda za pregled struktura očne površine pri kojoj se koriste tri vitalne boje: fluorescein, bengalsko crvenilo (engl. *Rose bengal*) i lizamin zelena boja (engl. *Lissamine green*) (104).

**Fluorescein** je netoksična, u vodi topiva boja koju pacijenti dobro podnose. Dostupna je u obliku 1-postotne i 2-postotne otopine ili komercijalno dostupnih fluoresceinskih trakica. Boji područja prekida čvrstih sveza (engl. *thigh junction*) među epitelnim stanicama te zone oštećenja glikokaliksa (104).

**Bengalsko crvenilo** dostupno je u 1-postotnoj otopini (104). Boji epitelne stanice rožnice i spojnice u zonama oštećenja njihova mucinskog omotača, tj. glikokaliksa, neovisno o njihovoj vitalnosti. Služi za procjenu funkcije mukoznog sloja čime se neizravno ispituje zaštitna funkcija suznog filma. Zbog svojih mana, epitelotoksičnosti, osjećaja pečenja u oku i refleksnog suzenja, pacijenti je slabije podnose (105).

**Lizamin zelena boja** dostupna je u 1-postotnoj otopini, a boji devitalizirane i degenerirane epitelne stanice (104). Nije epitelotoksična pa je pacijenti dobro podnose i često se koristi za pregled struktura očne površine. Koristi se i u kombinaciji s bengalskim crvenilom. Ta se kombinacija smatra idealnom za pregled struktura očne površine s dobrom podnošljivošću i osjetljivošću. Lizamin zelenom bojom ispituje se integritet epitelnih stanica, a bengalskim crvenilom integritet mucinskog omotača na njihovoj površini (106).

Evaluacija testa bojenja vitalnim bojama obavlja se pomoću gradacijskih skala. Pri pregledu se analizira oblik, lokalizacija i intenzitet bojenja na mjestima oštećenja očne površine, najčešće rožnice i spojnice. *Bjsterveldovom skalom* površina oka dijeli se u tri zone: rožnicu te medijalnu i lateralnu spojnicu. Intenzitet oštećenja gradiira se od 1 (nekoliko rijetkih obojenih točaka) do 3 (guste, konfluirajuće, obojene točke) u svakoj zoni (107). Ukupan zbroj bodova je 9, a zbroj veći od 3,5 smatra se patološkim. *National Eye Institute / Industry Workshop* (NEI) skala najčešće je korištena skala u kliničkom i istraživačkom radu za evaluaciju testa bojenja fluoresceinom (6). NEI skalom rožnica se dijeli u pet zona: centralnu, gornju, donju, nazalnu i temporalnu, a intenzitet bojenja gradiira se od 0 do 3 u svakoj zoni. Spojnica se dijeli u tri zone: gornju paralimbalnu, donju paralimbalnu te nazalnu i temporalnu perifernu zonu, a intenzitet bojenja gradiira se kao i kod rožnice. Ukupan zbroj bodova za rožnicu je 15, a za spojnicu 9. *Oksfordska skala* koristi se za evaluaciju testa bojenja svim trima vitalnim bojama. Gradiira se grafičkom skalom od 0 do 5, ovisno o

gustoći obojenih točkica na rožnici i spojnici (108). *Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus* (CLEK) skalom je rožnica, slično kao i kod NEI skale, podijeljena u pet zona, a spojnica u četiri zone: gornju, donju, nazalnu i temporalnu. Svaka zona gradi se od 0 do 4, ovisno o intenzitetu i gustoći bojenja (109). *Ocular staining score* (OSS) skala koristi se za evaluaciju bojenja fluoresceinom i lizamin zelenom bojom, a nalaz se gradi od 0 do 3: za fluorescein (0: 0 točkica, 1: 1 – 5 točkica, 2: 6 – 30 točkica, 3: > 30 točkica) i za lizamin zelenu boju (0: 0 – 9 točkica, 1: 10 – 32 točke, 2: 33 – 100 točkica, 3: > 100 točkica) (110).

Međutim, potrebno je istaknuti da pozitivan nalaz testa bojenja vitalnim bojama nije specifičan za suho oko, već je prisutan i u drugim bolestima površine oka. No, ipak, kod suhog oka specifična je distribucija pozitivnih zona na rožnici, najčešće u njezinoj donjoj trećini (104).

### 1.3.5.3. Metode procjene upale očne površine

Upala je bitan dio patofiziologije bolesti suhog oka i dobar pokazatelj težine bolesti. No, nije specifična samo za suho oko te se javlja i u brojnim drugim očnim i sistemskim bolestima. Kod autoimunih bolesti, upala zahvaća oko, ali i druge organe, kao npr. zglobove, kožu i sl. Pokazatelji upale očne površine jesu hiperemija spojnice te brojni upalni markeri.

#### 1.3.5.3.1. Hiperemija spojnice

Hiperemija spojnice tipičan je znak upale očne površine. Nastaje kao posljedica vazodilatacije krvnih žila spojnice u reakciji na patološki podražaj. Jednostavno se detektira procijepnom svjetiljkom ili makroskopski u fokalnom osvjetljenju. Za njezino stupnjevanje najčešće se koriste grafičke skale, Efronova skala i CCLRU (engl. *Cornea and Contact Lens Research Unit*) skala (111). CCLRU skala gradi hiperemiju od 1 (vrlo blaga hiperemija) do 4 (teška hiperemija). Glavni nedostatak joj je subjektivnost gradacije. U svrhu boljeg dokumentiranja i objektivnije procjene težine hiperemije koristi se digitalna slikovna analiza.



#### 1.3.5.3.2. Biomarkeri upale

Upala je dio složenoga biološkog odgovora organizma na štetne čimbenike pri čemu se oslobađaju brojni citokini, interleukini i enzimi. Veliki napori ulažu se u identifikaciju tih medijatora upale koji bi služili kao biomarkeri u dijagnostici i terapiji bolesti suhog oka.

**Matriks metaloproteinaza (MMP)** jedna je od brojnih proteaza čija je koncentracija povišena u suznom filmu kod bolesti suhog oka (11, 99). Normalna koncentracija MMP-a iznosi 3 do 40 ng/ml, a više vrijednosti smatraju se patološkima. MMP oštećuje čvrste sveze (engl. *tight junctions*) epitelne barijere struktura očne površine te je njezina povišena koncentracija indikator disfunkcije te barijere. Povišena je u Sjögrenovu sindromu i u umjerenim do teškim oblicima bolesti suhog oka. Nedavno je konstruiran komercijalno dostupan (engl. *point of care*) dijagnostički uređaj za njezino mjerenje (InflammaDry, Rapid Pathogen Screening, Inc, Sarasota, FL, USA), no isti nije u široj uporabi (11, 99).

**Laktoferin** je protein suzne žlijezde čija je koncentracija snižena u uvjetima hiperosmolarnog suznog filma i kod disfunkcije suzne žlijezde (vidi poglavlje 1.1.2.4.3.). Touch Tear Lactoferin Micro Assay (Touch Scientific, Inc, Raleigh, NC) komercijalno je dostupan uređaj za njegovo mjerenje, ali, kao i prethodno navedeni, nije u široj uporabi (16).

U literaturi se spominju brojni laboratorijski testovi za analizu ostalih biomarkera u suznom filmu, kao npr. TNF $\alpha$ , interferona gama, IL1 i interleukin 6 (IL6). Međutim, ti testovi nisu komercijalno dostupni i koriste se samo u eksperimentalne svrhe (11).

### 1.3.6. PREGLED SUZNOG FILMA: PROCJENA VOLUMENA SUZA

#### 1.3.6.1. Meniskometrija

Meniskometrija je metoda koja se koristi za procjenu volumena suznog meniska (11). Važnost suznog meniska je u tome da služi kao spremnik suza za preokularni suzni film, budući da se u njemu nalazi 75 % – 90 % ukupna volumena suza (12).

Njegove su karakteristike važne u diferenciranju podtipa suhog oka te bi njegov pregled trebao biti sastavnim dijelom rutinskog pregleda svakog pacijenta sa suhim okom. On je manjeg volumena i visine kod pacijenata s hiposekrecijskim suhim okom, tj. deficitom vodene komponente suznog filma, a većeg volumena kod poremećaja ekskrecije suza.

Pregled suznog meniska sastoji se od procjene njegova oblika, visine i volumena (99). Evaluira se pregledom na procijepnoj svjetiljci nakon kapanja fluoresceina. Pregledava se njegova zakrivljenost i visina; u normalnim uvjetima ima konkavan oblik centralno, a konveksan na rubu vjeđe te je visok 0,3 – 1 mm (99). Patološki nalaz podrazumijeva nepravilan izgled te visinu manju od 0,3 mm ili veću od 1 mm. Toj jednostavnoj metodi zamjera se subjektivnost, invazivnost i slaba ponovljivost. Objektivniji pregled suznog meniska, bez potrebe za kapanjem fluoresceina, moguć je korištenjem kompliciranijih uređaja, videomeniskometrije s projektorom i kamerom, optičke koherentne tomografije (OCT meniskometrija) te portabilnim meniskometrom (78, 112 – 113). Potonji se nalazi na pametnim telefonima u obliku aplikacije. Metoda je praktična. Koristi se zajedno s procijepnom svjetiljkom. Uređaj projicira crno-bijele pruge koje se reflektiraju s površine suznog filma što olakšava vizualizaciju suznog meniska (113). Metoda ima dobru ponovljivost, a rezultati su usporedivi s rezultatima puno kompliciranijih metoda, konvencionalnom videomeniskometrijom ili OCT meniskometrijom koje objektivno mjere visinu, zakrivljenost i volumen suznog meniska s dobrom ponovljivošću. S druge strane, konjunktivohalaza, LIPCOF i abnormalnosti ruba vjeđe mogu rezultirati pogreškama u mjerenjima (engl. *bias*). Glavne su prednosti ovih metoda neinvazivnost i objektivnost, a nedostatci komplicirana i skupa oprema te trajanje pretrage.

#### 1.3.6.2. Schirmerov test

Schirmerov test je test mjerenja produkcije suza. Izumio ga je 1903. godine njemački oftalmolog Schirmer, koji je prvi put upotrijebio klinički pojam *suho oko* (58). S obzirom na to da vodeni sloj čini više od 90 % ukupnoga volumena suza, ovim se testom u prvom redu mjeri njegova sekrecija te isti služi za neizravnu procjenu funkcije glavne suzne žlijezde. Jedan je od najprimjenjivanijih testova u dijagnostici bolesti suhog oka. S jedne strane jer je jedan od najstarijih, a s druge jer sam termin *suho oko*, iako patofiziološki neprikladno, sugerira da je etiologija smetnji tog poremećaja u smanjenoj sekreciji suza. Nerijetko se koristi i kao samostalan u rutinskom radu, što je pogrešno.

Schirmerov test izvodi se pomoću 5 mm široke i 35 mm duge trakice filter-papira. Najprije se blazinicama preko zatvorenih vjeđa odstrani višak suza. Potom se filter-papir uvrne na rubu vjeđe u dužini od 5 mm te se postavi u donji forniks na granici između srednje i vanjske trećine donje vjeđe. Preporučuje se da vjeđe budu zatvorene jer se time eliminira

treptanje i poboljšava ponovljivost. Nakon pet minuta filter-trakica se ukloni iz oka te se izmjeri njezin vlažan dio u milimetrima. Vrijednost viša od 10 mm pokazatelj je uredne sekrecije, 10 – 5 mm granični je nalaz, a manje od 5 mm navlažene trakice sugerira smanjenu sekreciju suza (104). Prethodno opisan način provođenja Schirmerova testa naziva se Schirmer I. Taj test mjeri ukupnu sekreciju suza koja uključuje bazalnu i refleksnu. U želji da se odvoje bazalna i refleksna sekrecija suza te da se i odvojeno mjere, pri provedbi Schirmerova testa može se koristiti lokalni anestetik. Njime se blokira dio refleksnog luka, a time i refleksna sekrecija. Lokalni anestetik kapa se u donji forniks prije postavljanja filter-papira. Ovaj način provođenja testa naziva se Schirmer II i njime se mjeri bazalna sekrecija suza. Razlika rezultata dvaju testova jednaka je refleksnoj sekreciji za koju se ranije mislilo da je izravan pokazatelj funkcije glavne suzne žlijezde. Danas je poznato da glavna i akcesorne suzne žlijezde podjednako sudjeluju u bazalnoj i refleksnoj sekreciji suza te da se lokalnim anestetikom ne može u potpunosti blokirati refleksno suzenje. Stoga se preporučuje provoditi samo Schirmer I jer se time dobivaju vjerodostojnije vrijednosti testa i pouzdaniji podatci o produkciji suza iz suzne žlijezde (11). Neki predlažu da se test provodi mjerenjem maksimalne sekrecije suza nakon što se vatenim štapićem podraži nazalna suznica, pretpostavljajući da se time dobiva najbolji uvid u funkciju suzne žlijezde. Patološka je vrijednost ona manja od 15 mm izmjerena 2 minute nakon postavljanja filter-trakice u oko (104). S druge strane, Abelson predlaže provođenje *double void* tehnike (114). Naime, Schirmerov test ubraja se u invazivne pretrage suznog filma i često se izvodi na kraju pregleda. Prije njega u oko se često kapa fluorescein i izvode ostale pretrage koje izazivaju refleksno suzenje. Stoga, da bi rezultat testa bio što pouzdaniji, potrebno je ukloniti sav višak tekućine iz oka pomoću komadića filter-papira uloženog u donji forniks u trajanju od nekoliko sekunda, zatim nastaviti test prema rutinskom protokolu.

Schirmerov test jedan je od najčešće korištenih testova u oftalmologiji te je njegova uloga u procjeni funkcije suznog filma neupitna. No, kada bi to bio jedini test koji bi se provodio u dijagnostici suhog oka, što se danas često radi, više od polovice pacijenata ne bi bilo detektirano. Kod hiposekrecijskog suhog oka on pokazuje patološki rezultat jer je sekrecija suza smanjena. No, u slučaju hiperevaporativnog suhog oka test je uredan jer je sekrecija vodene komponente uredna, čak može biti i uvećana zbog iritacije. Pravilno je taj test koristiti u sklopu čitave baterije pretraga u rutinskoj procjeni funkcije suznog filma.

### 1.3.7. PREGLED SUZNOG FILMA: PROCJENA KVALITETE SUZA

#### 1.3.7.1. Evaporimetrija

Evaporimetrija je metoda mjerenja volumena preokularnog suznog filma koji evaporira s površine rožnice u sekundi. U normalnim uvjetima evaporacijom se eliminira oko 8 % – 15 % suza, dok kod disfunkcije suznog filma to može biti i do 50 % (51, 53). Vrijednost ove metode proizlazi iz njezine mogućnosti diferencijacije hiperevaporativnog od hiposekrecijskog suhog oka. Kod hiperevaporativnog podtipa bolesti, zbog disfunkcije lipidnog sloja, evaporacija je uvećana. Nasuprot tomu, kod hiposekrecijskog podtipa evaporacija je uredna. Trenutno ne postoji komercijalno dostupan uređaj za mjerenje evaporacije suza. Naime, u provođenju ove metode iznimno je važno zadovoljiti stroge uvjete koji su mogući jedino u laboratorijima. To su: relativna vlažnost, temperatura i strujanje zraka iznad površine oka, evaporacija s kože vjeđa te površina oka s koje se ona mjeri (115, 116). U protivnome, nije moguće dobiti pouzdane rezultate testa. Budući da ti uvjeti nisu dostupni u rutinskom radu, metoda uglavnom ostaje u eksperimentalnoj primjeni. Prvi pokušaji mjerenja evaporacije obavljali su se korištenjem dermatoloških instrumenata koji su bili invazivni i izazivali su refleksno suženje, a evaporacija je bila uvećana. Danas se ista pokušava mjeriti složenim neinvazivnim evaporimetrima s preokularnim, ventiliranim i neventiliranim, komoricama. Da ju je teško mjeriti na pouzdan način, svjedoče i rezultati malobrojnih dosad objavljenih studija, koje prikazuju izrazito širok raspon vrijednosti evaporacije suznog filma u uvjetima njegove uredne funkcije od 0,4 do  $50 \times 10^{-7} \text{ g/cm}^2/\text{s}$  (12).

#### 1.3.7.2. Mjerenje osmolarnosti suza

Hiperosmolarnost suza osnovni je pokazatelj bolesti suhog oka koji je konstantno prisutan u svim njezinim oblicima (3, 4). Problem u njegovoj procjeni je taj što se vrijednosti osmolarnosti zdravoga i patološki promijenjenoga suznog filma u značajnoj mjeri preklapaju, a dogovora oko granične vrijednosti nema. U literaturi se iste kreću od 305 mOsm/L do 316 mOsm/L s osjetljivošću od 64 % do 91 % i specifičnošću od 85 % do 98,4 % (117, 118). Prema smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II) normalna prosječna vrijednost osmolarnosti smatra se  $302,2 \pm 8,3 \text{ mOsm/L}$ , kod blaže do umjereno suhoga oka ista je  $315 \pm 11,4 \text{ mOsm/L}$ , a u teškom obliku bolesti iznosi  $336,4 \pm 22,3 \text{ mOsm/L}$

(12). Jedini zasada komercijalno dostupan uređaj za njezino mjerenje je TearLab Osmolarity system (TearLab Corporation, San Diego, SAD). Uređaj je praktičan i jednostavan za primjenu, no nije pristupačan, zahtijeva primjenu jednokratnih sonda. Patološkim se smatraju vrijednosti  $\geq 308$  mOsm/L ili razlika u osmolarnosti između očiju  $> 8$  mOsm/L (11).

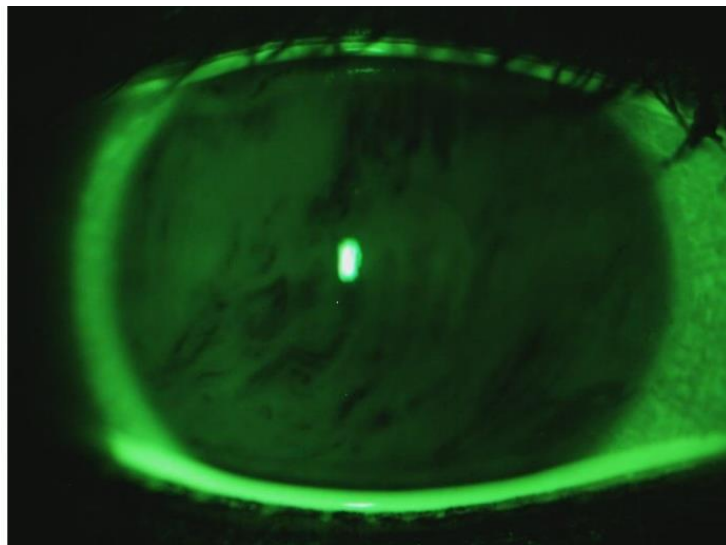
### 1.3.7.3. Procjena stabilnosti suznog filma

Stabilan je suzni film imperativ u održavanju homeostaze struktura očne površine i kvalitete vida. Rezultat je uredne funkcije i ravnoteže njegovih slojeva: lipidnoga, mukoznoga i vodenoga. Njegova nestabilnost je, prema definicijama koje vrijede, temeljni parametar složene patofiziologije bolesti suhog oka te je zajedno s hiperosmolarnošću konstantno prisutan u svim oblicima te bolesti (3 – 5, 35). Istovremeno, metode za procjenu stabilnosti suznog filma od najvećeg su kliničkog značaja u rutinskoj dijagnostici bolesti suhog oka (3 – 5, 11). Suzni film u normalnim uvjetima na površini oka destabilizira se nakon 15 do 40 sekunda ako se onemogući treptanje, a osnovni način procjene njegove stabilnosti je mjerenje vremena do pojave pukotina na njegovoj površini nakon treptaja (engl. *Break-up time*; BUT) (38). Testira se vizualizacijom površinskog sloja suznog filma na rožnici. Metode za procjenu stabilnosti suznog filma provode se na dva načina: invazivno ili neinvazivno (11). Invazivne metode koriste se otopinom fluoresceina za lakšu vizualizaciju površine suznog filma, a neinvazivne refleksijom svjetla ili slike s površine rožnice. Neinvazivne metode ni na jedan način ne mijenjaju suzni film u njegovu nativnom obliku. U oko se ne kapa ništa jer se kapanjem bilo kakve otopine remeti ekvilibrij suznog filma i posljedično povećava evaporacija (53). Time se stvaraju nefiziološki uvjeti koji skraćuju stabilnost suznog filma (7), a izazivanjem refleksnog treptanja i suzenja mijenja i njegov sastav. S obzirom na to da neinvazivni testovi omogućuju pregled suznog filma u fiziološkom stanju, smatraju se boljima, točnijima i pouzdanijima od invazivnih u procjeni stabilnosti suznog filma.

Posljednjih godina u literaturi se opisuju brojne neinvazivne metode koje se većinom koriste samo u istraživačke svrhe, a veliki naponi usmjeravaju se otkrivanju one koja će u široj primjeni i na pouzdan, dostupan i praktičan način omogućiti procjenu stabilnosti suza.

#### 1.3.7.3.1. Invazivni test pucanja suznog filma

Još od 1969. godine, kada ga je prvi put predložio Norn u svojem radu (119), invazivni test pucanja suznog filma (engl. Tear break-up time; TBUT) ostaje najprimjenjivanija pretraga u rutinskoj procjeni funkcije suza (120 – 121). Test je invazivan jer se izvodi kapanjem 1-postotne ili 2-postotne otopine fluoresceina u oko ili doticanjem spojnice komercijalno dostupnim fluoresceinskim trakicama. Princip izvođenja testa je taj da se fluoresceinom oboji površina suznog filma te time omogući vizualizacija nepravilnosti na njoj. Nakon kapanja fluoresceina u oko, ispitanika se zamoli da 3 – 5 puta trepne, zatim da više ne trepće. U periodu između treptaja, procijepnom se svjetiljkom u kobaltno plavom svjetlu promatra površina suznog filma te se mjeri vrijeme potrebno od otvaranja oka do pojave pukotina na površini. Pukotine se vide kao tamne zone u fluoresceinu (Slika 1.).



**Slika 1.** Pucanje suznog filma na površini oka nakon treptaja za vrijeme mjerenja TBUT-a. Pukotine se vide u obliku tamnih zona u fluoresceinu.

Pucanje suznog filma najčešće nastaje u donjem ili centralnom dijelu rožnice. Problem nastaje pri interpretaciji dobivenih vrijednosti TBUT-a. Naime, u literaturi ne postoji ujednačen dogovor o graničnoj vrijednosti testa. Lemp i Mengher predložili su graničnu vrijednost TBUT-a od 10 sekunda, pri čemu se vrijednosti od 5 do 10 sekunda smatraju znakom granične bolesti suhog oka, a manje od 5 sekunda sigurnim znakom bolesti suhog oka

(8, 122). Abelson i sur. te Ibrahim i sur. temeljem rezultata svojih studija predložili su graničnu vrijednost od 5 sekunda (123, 124). Dogovor o graničnoj vrijednosti TBUT-a ne postoji ni u smjernicama dijagnostike bolesti suhog oka koje su na snazi. Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II) i dalje predlaže graničnu vrijednost TBUT-a od 10 sekunda (11), dok Azijsko društvo za suho oko (ADES) predlaže da to bude 5 sekunda (5).

TBUT je standardni i općeprihvaćeni test u dijagnostici bolesti suhoga oka. Prema smjernicama radnoga tijela National Eye Institute/Industry Workshop, Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II) i Azijskog društva za suho oko (ADES), TBUT se smatra osnovnim kriterijem ili među osnovnim kriterijima za dijagnozu bolesti suhog oka (3 – 6). No, istovremeno su ga brojna istraživanja okarakterizirala nepouzdanim i nereproducibilnim (7 – 11). Posljedica je to brojnih čimbenika koji prilikom testiranja mogu utjecati na vjerodostojnost dobivenih vrijednosti TBUT-a, kao što su volumen, koncentracija, pH vrijednost, tip i veličina kapi ukapane fluoresceinske otopine. Nadalje, važno je i iskustvo ispitivača, način treptanja ispitanika, tehnika osvjetljivanja očne površine i slično (8). Na koji način i koliko fluoresceina kapnuti u suzni film da test bude što reproducibilniji – pitanje je otvoreno za daljnja istraživanja te je predmetom brojnih rasprava. Naime, volumen suza u oku iznosi oko 6 – 7  $\mu$ l. Kapanjem većeg volumena otopine fluoresceina u oko, mijenja se stabilnost suznog filma te time lažno povećava vrijednost TBUT-a. Marquardt i sur. u svojem su radu objavili da se mikropipetiranjem 1  $\mu$ l 2-postotne otopine fluoresceina u oko značajno poboljšala reproducibilnost TBUT-a (7). Slično su u svojem radu dobili Korb i sur. koristeći se fluoresceinom impregniranim trakicama koje otpuštaju pet puta manje fluoresceina u oko od standardnih (125). Pult i Riede-Pult utvrdili su puno bolju reproducibilnost testa koristeći fluoresceinske trakice širine 1 mm (126). Preporuka je Azijskog društva za suho oko (ADES) primjena najviše 2  $\mu$ l fluoresceinske otopine (5). Iz navedenoga proizlazi da se kapanjem minimalnih količina fluoresceina postiže bolja reproducibilnost TBUT-a, no inzistiranje na mikrolitarskim volumenima fluoresceina sam način izvođenja testa postaje manje praktičan za rutinsku primjenu. Važno je i vrijeme koje protekne od kapanja fluoresceina u oko do mjerenja TBUT-a. Što je veći volumen otopine koja se kapa u oko, to je potrebno više vremena da se suzni film stabilizira i da se dobiju vjerodostojnije vrijednosti TBUT-a (127). Stoga nije pravilno mjeriti TBUT odmah nakon kapanja fluoresceina u oko, nego treba pričekati da prođe minimalno onoliko vremena koliko je potrebno da pacijent 3 – 5 puta trepne punim treptajem (5). Cho i sur. predložili su minimalno tri uzastopna mjerenja TBUT-a da bi se dobile pouzdanije vrijednosti testa (128). U njihovu radu vrijednost TBUT-a se u prvome mjerenju značajno razlikovala od vrijednosti u drugome i trećem, dok su vrijednosti

drugoga i trećeg mjerenja bile podjednake. Nichols je utvrdio značajno bolju ponovljivost testa uprosječenjem vrijednosti dvaju mjerenja TBUT-a (129). Neki pak autori predlažu praćenje TBUT-a tijekom nekoliko mjeseci da bi se dobio što pouzdaniji rezultat (130). Istraživanja su pokazala da čak ni automatizacija metodologije TBUT-a nije značajno poboljšala ponovljivost testa u usporedbi s dobro utreniranim ispitivačem (131).

Ousler i sur. digitalnim, dinamičkim prikazom pucanja suznog filma nakon kapanja fluoresceina u oko utvrdili su da suzni film puca na nekoliko načina (amorfno, u obliku linearnih pukotina, granularno, točkasto i pramenasto) (44). Pucanje suznog filma u obliku pukotina najčešće se povezuje s bolešću suhog oka.

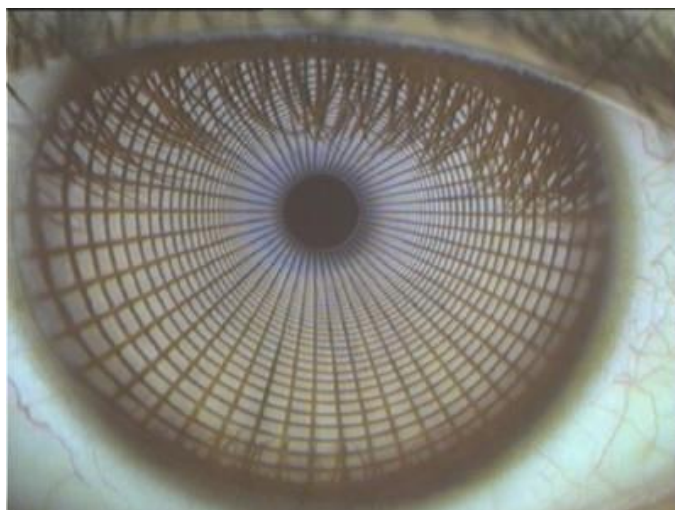
Iz svega navedenog proizlazi da je TBUT jednostavan i praktičan test, pogodan za svakodnevni rutinski rad s pacijentima. Za njegovo izvođenje potrebno je svega nekoliko minuta, stoga ni ne čudi da je prvi i najučestaliji izbor među svim dostupnim testovima u dijagnostici bolesti suhog oka. No, ne smijemo zanemariti njegove nedostatke. Test je invazivan i premda se koristi u procjeni stabilnosti suznog filma, sam je mijenja na način da je skraćuje. Zato je jasno da vrijednosti koje se pritom dobivaju nisu objektivni pokazatelj funkcije suznog filma. Nadalje, za sada ne postoji dogovor o najboljem načinu provođenja testa u praksi, njegovoj graničnoj vrijednosti, količini i načinu kapanja fluoresceina i broju mjerenja da bi se dobile pouzdane vrijednosti. Brojna istraživanja dokazala su da se kapanjem manjeg volumena poboljšava reproducibilnost testa, no ne i njegova praktičnost. Stoga, iako je TBUT prihvaćen kao "zlatni standard" u dijagnostici suhog oka, standardizirani općeprihvaćeni način njegova izvođenja za sada, nažalost, ne postoji.

#### 1.3.7.3.2. Neinvazivni test pucanja suznog filma

S obzirom na to da se TBUT-u zamjerala lošija ponovljivost i reproducibilnost, brojni su istraživači krenuli u pronalazak metode koja bi na neinvazivan i pouzdan način mjerila stabilnost suznog filma. Neinvazivni test pucanja suznog filma (engl. *Non-invasive tear break-up time*; NIBUT) se, prema definiciji, izvodi na način da se u oko ništa ne kapa, nema kontakta između mjernog instrumenta i površine oka, ne zahtijeva se neprirodno otvaranje vjeđa, suprimiranje ili forsirano treptanje te se ne mijenja temperatura površine oka (11). Velika je prednost ove metode što se suzni film promatra u svojem fiziološkom stanju pa se pretpostavlja da i dobivene vrijednosti ovog testa daju vjerodostojniji podatak o funkciji suznog filma nego one TBUT-a. Pri izvođenju TBUT-a suzni film se boji fluoresceinom radi



vizualizacije. Nasuprot tomu, kod NIBUT-a površina suznog filma promatra se u refleksiji slike ili svjetla projiciranoga na površinu oka (Slika 2.). Pravilna refleksija slike ili svjetla znak je stabilna suznoga filma, a pojava nepravilnosti i tamnih zona u toj refleksiji znak su njegove destabilizacije i pucanja (13). Nakon što pacijent trepne, zamoli ga se da više ne trepće. Na površinu suznog filma projicira se slika mrežice, koncentričnih krugova ili svjetla. Potom se u refleksiji slike ili svjetla promatra površina suznog filma te se mjeri vrijeme koje je potrebno od otvaranja oka do pojave tamnih zona i nepravilnosti u njoj. Vrijeme izmjereno u sekundama bilježi se kao vrijednost NIBUT-a (11 – 13). Preporučuje se osvijetliti što veću površinu rožnice da bi se pucanje suznog filma moglo na vrijeme uočiti.

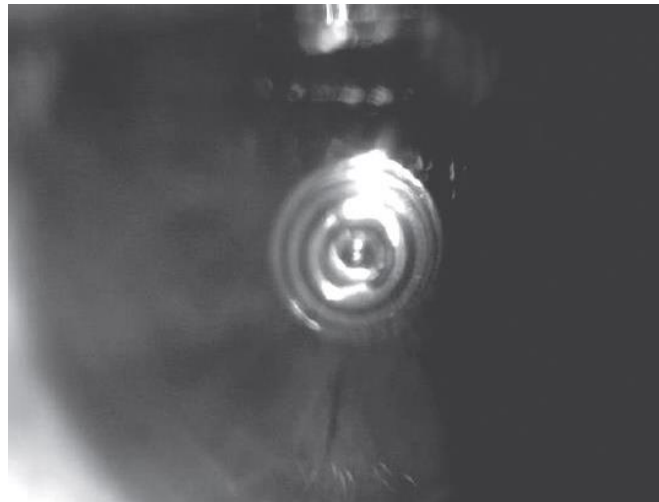


**Slika 2.** Neinvazivni test pucanja suznog filma. (25)

U literaturi su objavljeni brojni radovi koji opisuju razne metode mjerenja NIBUT-a, subjektivne i objektivne, uz primjenu manualnih i automatiziranih uređaja te kompjutorizirane digitalne tehnologije. Sve djeluju na sličan način, projiciraju sliku mrežice, koncentričnih krugova ili svjetla na površinu oka i analiziraju površinu suznog filma. Studije koje su uspoređivale TBUT i NIBUT utvrdile su da oni međusobno umjereno koreliraju, no vrijednosti NIBUT-a bile su duže od vrijednosti TBUT-a za oko  $4 \pm 12$  sekunda (25, 40). Razlog tomu je da se u neinvazivnom testu u oko ništa ne kapa i stoga ne dolazi do neželjenoga skraćanja stabilnosti suznog filma pa su i njegove vrijednosti duže.

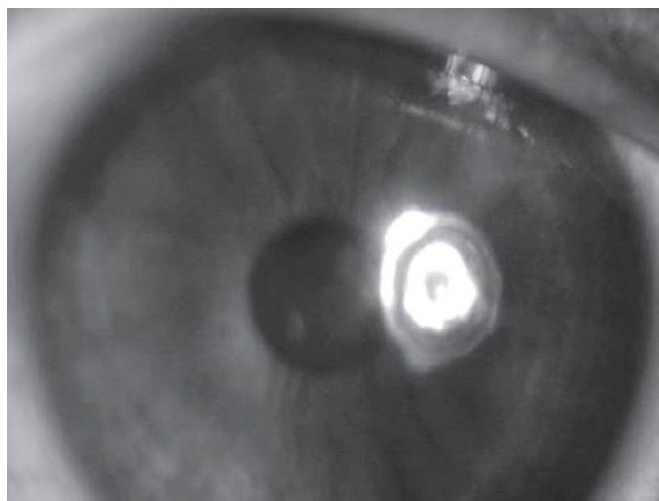
#### 1.3.7.3.2.1. Mjerenje NIBUT-a keratometrijom

Keratometar je instrument kojim se na neinvazivan način mjeri refraktivna jakost centralne rožnice. Instrument projicira sliku koncentričnih krugova na površinu rožnice te se time mjeri promjer zakrivljenosti prednje plohe rožnice i njezina refraktivna jakost (104). Vrijednosti se izražavaju u milimetrima promjera zakrivljenosti ili u dioptrijama refraktivne snage rožnice. Mjerenje se obavlja manualnim putem tako da se kroz manju rupicu na instrumentu, odvojenu od procijepne svjetiljke, promatra reflektirana slika na rožnici. Mjeri se zakrivljenost apikalnih 4 mm rožnice (132). (Slika 3.)



**Slika 3.** Mjerenje NIBUT-a keratometrijom. Projekcija slike koncentričnih krugova u centralnoj zoni rožnice. Pravilni krugovi vide se na površini stabilnoga suznog filma. (132)

Primjenom ove metode autori su primijetili da nakon otprilike pola minute reflektirana slika koncentričnih krugova postaje iregularna te se pojavljuju tamne zone u njoj. Zaključili su da je to posljedica promjena na površini suznog filma te da se ta površina, osim bojenjem fluoresceinom, može vizualizirati i u reflektiranoj slici s rožnice. Tu su činjenicu iskoristili za mjerenje NIBUT-a (Slika 4.).



**Slika 4.** Pucanje suznog filma na površini rožnice pri mjerenju NIBUT-a keratometrijom. Pukotine se vide u obliku nepravilnosti u reflektiranoj slici koncentričnih krugova. (132)

Tako su Patel i sur. u svojem istraživanju, koristeći keratometar, dobili vrijednosti NIBUT-a u kontrolnoj skupini oko 16 sekunda, a kod pacijenata sa suhim okom oko 7 sekunda (40). Slične rezultate, koristeći istu metodu, dobili su i Farrell i sur. te Little i Bruce (133, 134). Hirji i sur. su na površinu oka, uz pomoć keratometra, projicirali sliku rešetke te time povećali prostornu rezoluciju metode mjerenja NIBUT-a keratometrom (135). Projicirana slika fine, guste rešetke osjetljivija je za detekciju nepravilnosti suznog filma od koncentričnih krugova. Mengher i sur. su u svojem istraživanju koristili polukružnu plohu pričvršćenu na procijepnu svjetiljku (8, 136). Tom plohom su na površinu rožnice projicirali sliku fine mrežice, a slika je prekrivala čitavu površinu rožnice. Za razliku od keratometra, koji prekriva samo središnjih 4 mm rožnice, primjenom ove metode moglo se točnije procijeniti mjesto i vrijeme pucanja suznog filma, budući da on ne puca samo u centru rožnice nego i na periferiji. Madden i sur. utvrdili su izvrsnu ponovljivost NIBUT-a mjenom metodom keratometrije, a prosječne vrijednosti NIBUT-a su u zdravih ispitanika bile 35,6 sekunda mjerene keratometrom te 44,7 sekunda mjerene polukružnom plohom (137). Toj metodi najviše se zamjerala subjektivnost.

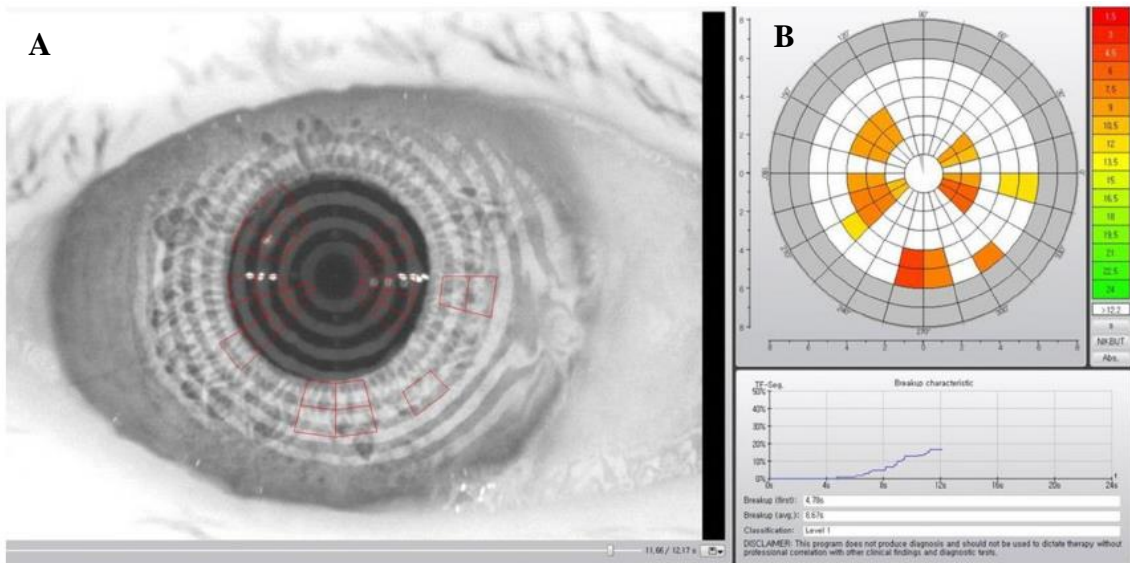
#### 1.3.7.3.2.2. Mjerenje NIBUT-a videokeratoskopijom

Koristeći se osnovnim principima keratometrije, mjerenje NIBUT-a keratometrom u najvećoj mjeri zamijenila je videokeratoskopija. Videokeratoskopija je komplicirani,

kompleksni, kompjutorizirani sustav koji se sastoji od kornealnog topografa i kompjutorskoga programa za obradu slika. Njome se u periodu između treptaja, na neinvazivan način, kontinuirano snima površina rožnice i suznog filma. Računalni programi obradom slika vrlo točno automatski procjenjuju trenutak pucanja suznog filma na površini rožnice. Ovaj automatizirani sustav objektivno detektira vrijeme tog pucanja s boljom prostornom i vremenskom rezolucijom nego keratometar (11, 13). Ima bolju ponovljivost i pouzdaniji je od subjektivnih metoda. Kornealni topograf, projekcijom slike koncentričnih krugova na površinu rožnice te kompjutorskom analizom reflektiranih slika, detaljno analizira površinu rožnice i suznog filma (Slika 5. i Slika 6.). Koristi se u kontaktologiji, refraktivnoj kirurgiji, dijagnostici bolesti rožnice te procjeni utjecaja rožnice i suznog filma na kvalitetu vida (104, 138).

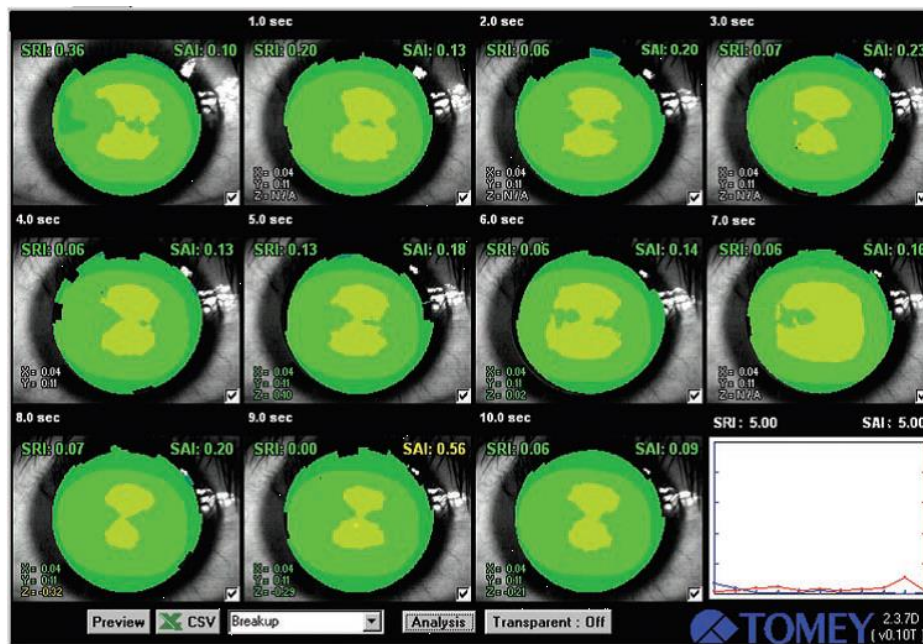


**Slika 5.** Mjerenje NIBUT-a videokeratoskopijom. Uređaj Oculus Keratograph 5M projicira sliku koncentričnih krugova na površinu suznog filma. (145)

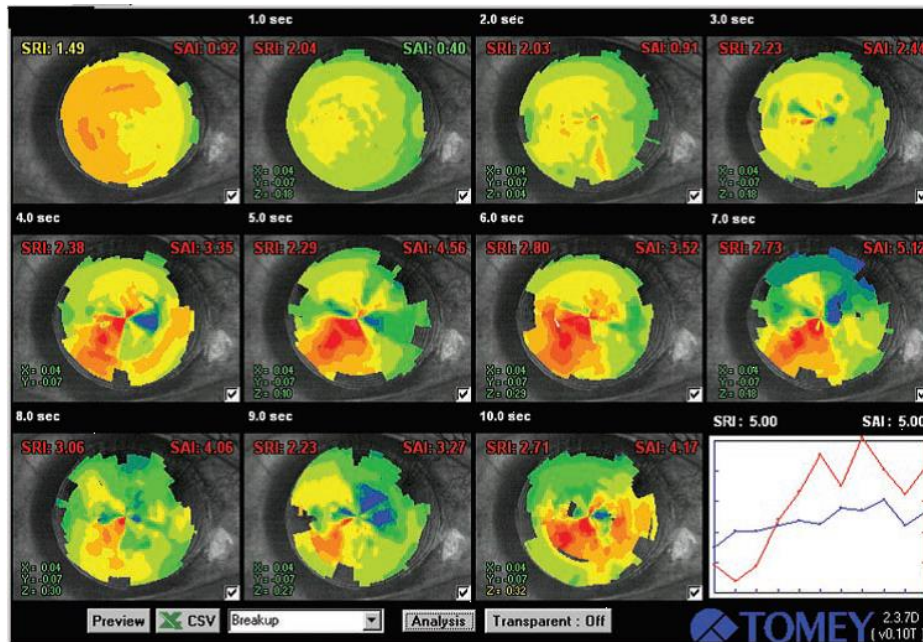


**Slika 6.** Metoda mjerenja NIBUT-a videokeratoskopijom. **A.** Dinamički prikaz pucanja suznog filma na površini oka. **B.** Prikaz ukupne površine destabiliziranog suznog filma (gore); prikaz dobivene vrijednosti NIBUT-a: prva se nepravilnost u reflektiranoj slici na površini suznog filma pojavila 4,7 sekunda nakon treptaja, a prosječno vrijeme pucanja suznog filma iznosilo je 8,6 sekunda (dolje). (138)

Goto i sur. u svojem su istraživanju koristili TMS-1 (Tomey Technology, Cambridge, MA) kornealni topograf za evaluaciju stabilnosti suznog filma, a osjetljivost i specifičnost ovako izmjenjenog NIBUT-a bile su 97,5 % i 62,5 % (139). Benedetto i sur., koristeći isti kornealni topograf, istaknuli su da je značajan postotak pacijenata sa suhim okom, njih 45 %, imalo iregularnosti površine rožnice te je taj postotak pao na 31 % nakon kapanja umjetnih suza u oko (140). U radu Gumusa i sur. korišten je Tomey RT 7000 kornealni topograf, a prosječne vrijednosti NIBUT-a dobivene tom metodom iznosile su  $4,9 \pm 1,6$  sekunda u kontrolnoj skupini te  $2,4 \pm 2$  sekunde u skupini ispitanika sa suhim okom (141). Temeljem rezultata dotadašnjih istraživanja, Goto i sur. godine 2003. izumili su komercijalno dostupan računalni program za analizu stabilnosti suznog filma (engl. *Tear film Stability Analysis System software*; TSAS) (142). Njime se svake sekunde, u periodu od 10 sekunda nakon treptaja, snima površina suznog filma (8 – 10 slika) te se kreira mapa njegova pucanja na površini rožnice (143). (Slika 7. i Slika 8.)



**Slika 7.** Prikaz TSAS mape pacijenta s urednim suznim filmom. TSAS mapa je ujednačena, homogenih boja što ukazuje na pravilan i stabilan suzni film. (143)



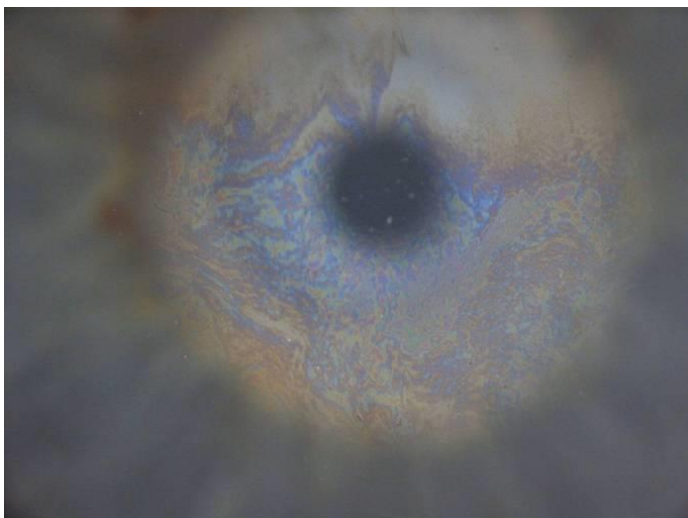
**Slika 8.** Prikaz TSAS mape pacijenta sa suhim okom. TSAS mapa neujednačena je izgleda. Crvene zone područja su destabilizacije i pucanja suznog filma na površini oka. Izgled mape ukazuje na nepravilnu površinu, nestabilna suznog filma. (143)

Osjetljivost i specifičnost mjerenja NIBUT-a ovom metodom iznosi 97 % i 88 %. No, u literaturi je pronađeno samo nekoliko radova koji su koristili TSAS za mjerenje NIBUT-a, ni jedan nakon 2004., što ukazuje na to da nije naišao na širu kliničku primjenu.

Keratograph (Oculus, Wetzlar, Germany) je kornealni topograf koji zajedno s *Tear film Scan* softverom omogućuje procjenu stabilnosti suznog filma potpuno neovisno o ispivaču. Istraživanja koja su uspoređivala ponovljivost i reproducibilnost ove metode sa subjektivnom metodom mjerenja NIBUT-a Tearscopeom pokazala su da su rezultati automatiziranog sustava bili bolji nego rezultati subjektivnog mjerenja (144). Prosječne vrijednosti NIBUT-a utvrđene Keratographom bile su 2 – 4,6 sekunda u ispitanika sa suhim okom te 4 – 9,5 sekunda u ispitanika s urednim suznim filmom (144,145). Videokeratoskopija velike brzine (engl. *High Speed Videokeratoscopy*; HSV) mjeri NIBUT u normalnim uvjetima treptanja. Očna se površina pritom analizira u velikoj vremenskoj rezoluciji što omogućuje najkonzistentniju i najprecizniju procjenu kvalitete suznog filma (146).

#### 1.3.7.3.2.3. Mjerenje NIBUT-a interferometrijom lipidnog sloja

Lipidni sloj sprečava evaporaciju suza te je ključan u očuvanju stabilnosti suznog filma na površini oka. Njegova je procjena temelj i neizostavan dio svake opravdane dijagnostike bolesti suhog oka (13, 23, 27). Nalazi se na površini suznog filma te se pravilno rasprostire iznad mukozno-vodenog sloja. Njegova površina može se vizualizirati fenomenom interferencije (13 – 15, 26). Interferencija je superponiranje dvaju ili više valova što rezultira novim oblikom vala. Pri procjeni lipidnog sloja, u refleksiji svjetla s površine suznog filma, promatra se njegova debljina, stabilnost i način formiranja na površini oka. Za provođenje pregleda potrebna je što veća i uniformnija refleksija bijelog svjetla. Metoda se zove interferometrija, a izvodi se neinvazivno, tj. u oko se ne smije ništa kapati, ni po njemu manipulirati. Lipidni sloj na površini rožnice vidi se u obliku vodoravno položenih, obojenih linija, nalik ulju na vodi. (Slika 9.)



**Slika 9.** Vizualizacija lipidnog sloja metodom interferometrije. Lipidni sloj vidi se u obliku valovitih obojenih linija (14).

To je rezultat interferencije reflektiranih zraka svjetlosti od površine lipidnog sloja te lipidno-vodne površine (13). Što je lipidni sloj deblji, to su boje intenzivnije, ima ih više, a vodoravne linije su gušće. Tanak lipidni sloj ima rijetke, okomito položene linije, a boje su slabijeg intenziteta do sive. Jako tanak lipidni sloj slabije reflektira svjetlost te se jedva može vidjeti na očnoj površini. Interferometrija, osim što se koristi u procjeni debljine lipidnog sloja, također se može koristiti za mjerenje NIBUT-a (147). Promatranjem površine lipidnog sloja u refleksiji svjetla između treptaja, jasno se može vizualizirati pojava nepravilnosti u obliku tamnih zona na njoj. Nepravilnosti su posljedica destabilizacije, tj. pucanja suznog filma na rožnici, a vrijeme koje protekne od otvaranja oka do njihove pojave bilježi se kao vrijeme pucanja suznog filma. To vremenski korelira s pojavom nepravilnosti u refleksiji mreže ili koncentričnih krugova pri provedbi NIBUT-a keratometrijom ili videokeratoskopijom. Metoda je neinvazivna i pouzdana za mjerenje NIBUT-a.

**Semikvantitativna interferometrija.** Prva u literaturi opisana metoda procjene debljine lipidnog sloja suza bila je semikvantitativna interferometrija. Provodila se na procijepnoj svjetiljci postavljanjem difuznog filtra (standardna oprema procijepne svjetiljke) ispred svjetla instrumenta. Svjetlo se projiciralo na rožnicu pri čemu se na površini lipidnog sloja stvarala refleksija svjetla veličine nekoliko milimetara (148). S obzirom na to da veličina i svjetlina refleksije nisu bili dostatni za kvalitetnu analizu lipidnog sloja i mjerenje NIBUT-a, ova jednostavna i praktična metoda nije naišla na širu primjenu.

**Tearscope.** Guillon je 1986. godine izumio komercijalno dostupan interferometar Tearscope (Tearscope; Keller, Windsor, UK) (149, 150). Tearscope je jedini do sada standardizirani uređaj koji se koristi za provođenje dviju važnih metoda u dijagnostici (dis)funkcije suznog filma, tj. za mjerenje debljine lipidnog sloja i NIBUT (Slika 10.).



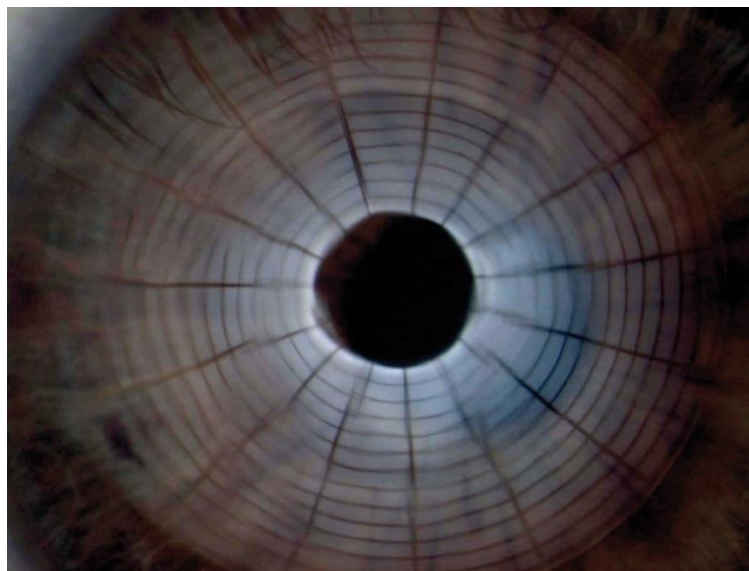
**Slika 10.** Uređaj Tearscope (14).



Obje se metode izvode neinvazivno i daju dragocjene podatke o fiziologiji suznog filma, njegovoj stabilnosti i (dis)funkciji. Tearscope se postavlja ispred objektiva procijepne svjetiljke na koju je vezan (Slika 11.). Uređaj koristi okruglu fluorescentnu žarulju kroz čiji se otvor promatra površina oka, ravnomjerno i difuzno osvijetljena bijelim svjetlom, a za procjenu NIBUT-a projicira se i slika mrežice. (Slika 12.)



**Slika 11.** Način korištenja Tearscopea s procijepnom svjetiljkom (14).



**Slika 12.** Mjerenje NIBUT-a korištenjem Tearscopea. Uređaj projicira sliku mrežice na površinu suznog filma. S lijeve strane vidi se pojava nepravilnosti u reflektiranoj slici na mjestu pucanja suznog filma (150).

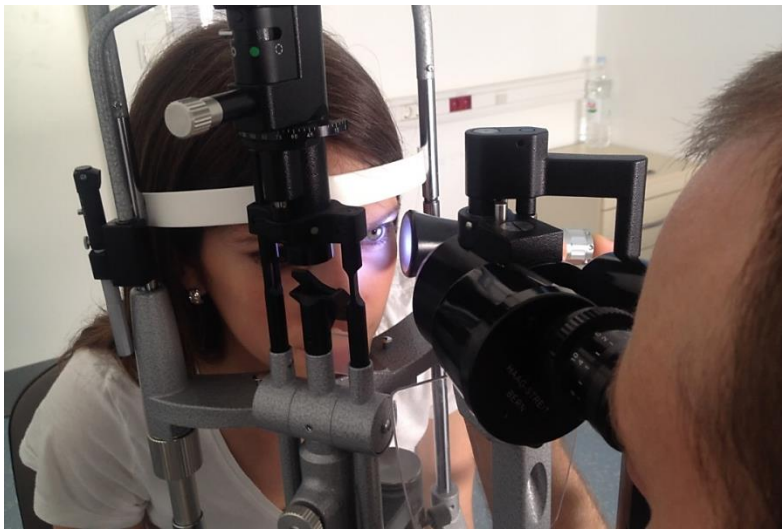
Tearscope se koristi izvorom hladnoga svjetla (engl. *light emitting diode*; LED) što minimizira sušenje suznog filma tijekom pregleda. Prednost Tearscopea je u tome što osvjetljava velik dio površine oka, omogućuje dinamičku procjenu funkcije lipidnog sloja suza, a nedostatak je što je vezan na procijepnu svjetiljku te je nepraktičan za rutinski rad s pacijentima. Za mjerenje NIBUT-a uređaj je potrebno postaviti na procijepnu svjetiljku, a zatim ga je za nastavak rutinskog pregleda potrebno ukloniti s nje. Time se značajno remeti i produljuje trajanje standardnog pregleda. Najprikladniji je za korištenje educiranu osoblju u subspecijalističkim kabinetima, isključivo sa svrhom dijagnostike bolesti suhog oka, no kao takav je nedostupan pacijentima i oftalmolozima na rutinskoj razini. Također, budući da se radi o skupu i kompliciranu uređaju, nedostupnu i nepraktičnu za svakodnevnu uporabu, njegova je proizvodnja obustavljena. Markoulli i sur. su Tearscopeom i Oculus Keratographom mjerili NIBUT kod 24 ispitanika s urednim suznim filmom i utvrdili prosječne vrijednosti NIBUT-a dobivene Tearscopeom  $15.9 \pm 10.7$  sekunda, a Oculus Keratographom  $10.9 \pm 3.9$  sekunda (151). Nosch i sur. dobili su prosječnu vrijednost NIBUT-a kod ispitanika s urednim suznim filmom 34,55 sekunda (152). Elliott i sur. uspoređivali su ponovljivost TBUT-a, Tearscopea i videokeratoskopije te utvrdili da je videokeratoskopija imala najlošiju, a Tearscope najbolju ponovljivost (153).

***Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza.*** Povlačenjem standardnog instrumenta za mjerenje NIBUT-a Tearscopea iz prodaje, oftalmologija se našla u paradoksalnoj situaciji: NIBUT se nedvojbeno izdvajao kao najvažniji u procjeni stabilnosti, odnosno (dis)funkciji suznog filma, a istovremeno nije postojao pouzdan i šire dostupan način njegova mjerenja (4). No, u literaturi se nedavno pojavio opis ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza (14, 15). (Slika 13.)



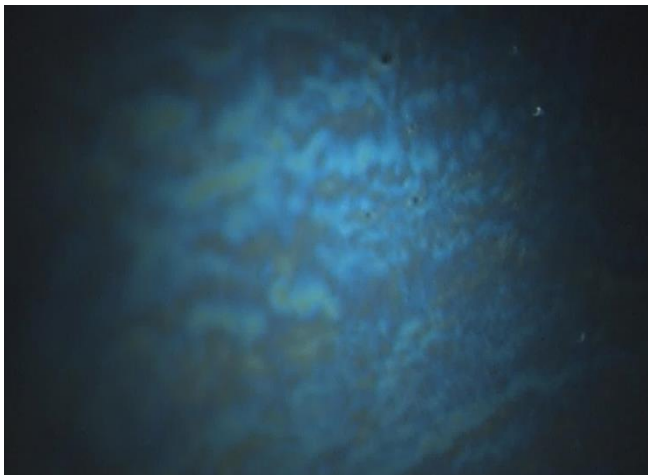
**Slika 13.** Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza.

Ovaj instrument, koristeći se principom interferometrije kao i Tearscope, mjeri debljinu lipidnog sloja suznog filma. Prednosti su mu praktičnost, niska cijena i jednostavnost uporabe jer nije vezan na procijepnu svjetiljku kao Tearscope. Radi se o modificiranoj ručnoj LED lampi kojom se projicira difuzno, hladno, bijelo svjetlo na površinu oka. Pritom se suzni film ne mijenja u svom nativnom obliku. Budući da projicira isti tip svjetla kao i Tearscope, osim što se koristi za procjenu debljine lipidnog sloja, instrument bi se mogao koristiti i za mjerenje NIBUT-a. Ispitivač drži lampu postranično od oka projicirajući difuzno bijelo svjetlo na očnu površinu te procijepnom svjetljkom promatra suzni film. (Slika 14.)



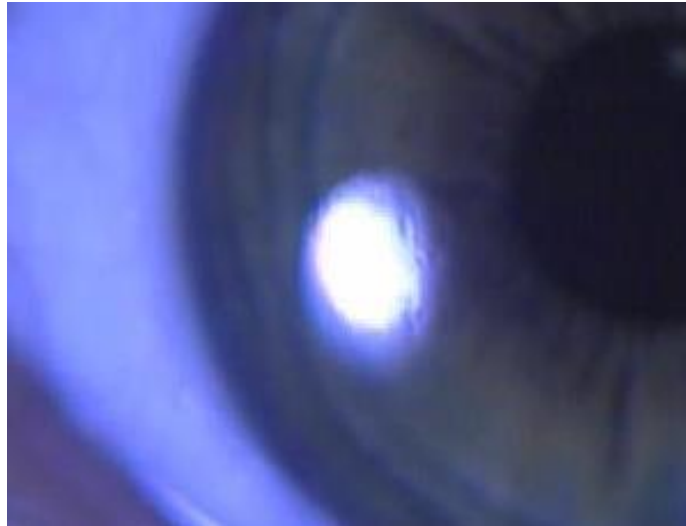
**Slika 14.** Način korištenja ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza zajedno s procijepnom svjetiljkom.

U refleksiji svjetla se, procjenom boja i izgleda interferometrijskih linija, analizira debljina lipidnog sloja. (Slika 15.)



**Slika 15.** Vizualizacija lipidnog sloja suznog filma korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza.

U trenutku pucanja suznog filma na površini lipidnog sloja u obojenim se linijama pojavljuju iregularne tamne zone nalik pukotinama. (Slika 16.)



**Slika 16.** Trenutak pucanja suznog filma na površini rožnice prilikom mjerenja NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta. Pukotine se vide u obliku tamnih zona u uniformnoj refleksiji svjetla projiciranog na površinu rožnice.

Vrijeme koje protekne od trenutka otvaranja oka pa do pojave iregularnosti bilježi se kao vrijeme pucanja suznog filma, odnosno NIBUT. Metoda je jednostavna, radi se s malenim instrumentom dugačkim 10 cm i širokim 5 cm, a za njezino izvođenje dovoljno je 5 – 10 minuta. Instrument nije vezan na procijepnu svjetiljku pa njegova primjena ne ometa uobičajeni ritam rada u ambulanti. Većina drugih, ranije opisanih metoda za mjerenje NIBUT-a, koristi komplicirane visokospecijalizirane uređaje koji se najčešće ne nalaze u općim oftalmološkim ambulantomama i koji većini oftalmologa nisu dostupni. Ti se uređaji često koriste onda kada je dijagnoza suhog oka već postavljena te kada je potrebno dodatno testiranje, a obavljaju je educirani specijalisti, usko specijalizirani za problematiku suznog filma. Vrijeme koje je potrebno za takvu dijagnostiku može trajati i satima. No, pitanje je kako pacijentima na rutinskoj razini pouzdano postaviti dijagnozu suhog oka. Koja metoda može omogućiti pouzdanu rutinsku analizu najvažnijeg znaka suhog oka, smanjene stabilnosti suznog filma? Kako to izvesti, a da se značajno ne remeti i ne produžuje vrijeme rutinskog oftalmološkog pregleda? TBUT je praktična, ali nedovoljno pouzdana metoda. S druge strane, NIBUT je vrlo vrijedna i pouzdana metoda koja, nažalost, zbog komplicirane i nedostupne opreme, nije našla mjesta u rutinskom radu oftalmologa. Ručni instrument za procjenu

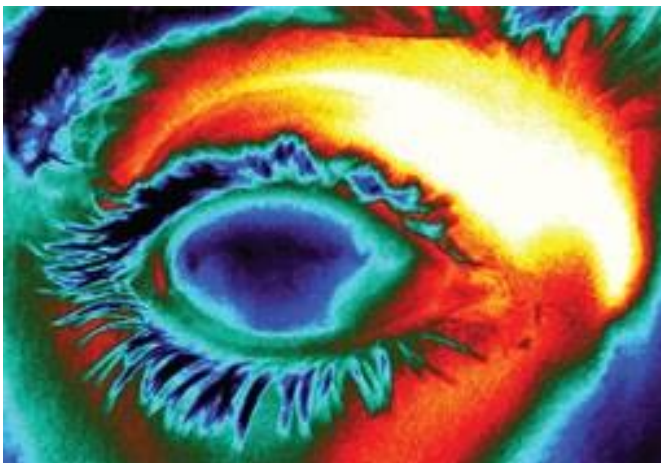
lipidnog sloja suza može biti dio rutinske oftalmološke opreme te kao takav dostupan svakom oftalmologu, kao npr. lupa za pregled očne pozadine. Potrebno je samo, kada se na temelju anamneze posumnja na suho oko, uzeti instrument u ruku i izmjeriti NIBUT, za što je potrebno 5 – 10 minuta. Lampa trenutno nije komercijalno dostupna, ali su ih nekoliko stotina proizvele farmaceutske kompanije i besplatno distribuirale oftalmolozima širom Europe. Zbog svoje jednostavnosti i niske cijene vrlo se lako može proizvoditi i distribuirati u velikom broju.

**Ostale metode interferometrije lipidnog sloja.** LipiView interferometar (TearScience, Morrisville, NC) je kompjutorizirani uređaj za kliničku primjenu koji, na principu interferometrije, objektivno mjeri debljinu lipidnog sloja suznog filma te omogućuje analizu morfologije Meibomovih žlijezda (154). Taj instrument ne može se koristiti za mjerenje NIBUT-a jer njime nije moguće analizirati lipidni sloj u gornjoj polovici rožnice. Pucanje suznog filma na površini rožnice može se pojaviti u bilo kojoj njezinoj zoni, no najčešće uz rub gornje vjeđe. "Lateral sharing" interferometrija je eksperimentalna metoda koja nema kliničku primjenu, a može se koristiti i u analizi stabilnosti suznog filma. Omogućuje analizu serije 25 interferometrijskih slika po sekundi za vrijeme prirodnog treptanja, a rezultati se obrađuju kompjutorski. Daje vrlo kompleksan uvid u kvalitetu suznog filma. Taj instrument pregiba i rotira reflektirane zrake svjetlosti koje potom interferiraju same sa sobom. Informacije o formi reflektirajuće plohe ekstrahiraju se iz dobivenoga interferentnog uzorka (155).

#### 1.3.7.3.2.4. Mjerenje NIBUT-a termografijom očne površine

Termografija očne površine nova je metoda neinvazivnoga mjerenja pucanja suznog filma. Suzni film puca na mjestima najjačeg isparavanja (evaporacije) što rezultira hlađenjem,

a zone njegova stanjivanja i pucanja pojavljuju se kao hladne točke na termografu (156). (Slika 17.)



**Slika 17.** Termografija očne površine. Tamnoplava zona na površini oka zona je najjače evaporacije, stanjivanja i pucanja suznog filma. (156)

Jedina studija koja se koristila ovom metodom za mjerenje NIBUT-a objavljena je 2016. godine, a objavili su je Su i sur. (157). Dobivene prosječne vrijednost NIBUT-a u kontrolnoj skupini ispitanika te u skupini sa suhim okom iznosile su  $4,5 \pm 0,9$  sekunda, odnosno  $2,1 \pm 1,1$  sekundu, čime se termografija očne površine približila automatiziranim metodama.

Iz svega navedenog proizlazi da metoda za provođenje NIBUT-a ima mnogo, no, unatoč tomu, NIBUT još uvijek nije u široj rutinskoj primjeni. To je većinom posljedica skupih, kompliciranih i nedostupnih instrumenata za njegovo mjerenje. Brojna istraživanja utvrdila su da objektivizacija i automatizacija metode poboljšava njezinu ponovljivost i pouzdanost, no ne i praktičnost. Trenutno nema dogovora ni oko standardiziranoga uređaja ni standardiziranoga načina za provođenje NIBUT-a. Metodologije se u studijama značajno razlikuju, a dobiveni rezultati nisu usporedivi. Kada bi kliničar i poželio koristiti se nekom od navedenih metoda, u čitavoj zbrci objavljenih rezultata teško bi mogao procijeniti koju vrijednost NIBUT-a smatrati patološkom, a koju urednom. Prema trenutno važećim preporukama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II), uredne vrijednosti NIBUT-a za subjektivne metode mjerenja (keratometrija i Tearscope) one su veće od 10 sekunda, a za objektivne automatizirane metode (videokeratoskopija, termografija očne površine) veće od 2,7 sekunda (11). Niže vrijednosti od navedenih smatraju se patološkima.

Mjerenje NIBUT-a omogućuje točnu i pouzdanu procjenu stabilnosti suza. Ono je važno u dijagnostici funkcije suznog filma, što je istaknuto u preporukama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II). Dapače, prvo je prema važnosti u smjernicama za dijagnozu bolesti suhog oka (11, 89). No, standardni uređaj za mjerenje NIBUT-a Tearscope više se ne proizvodi, a zbog nedostatka praktične i pouzdane metode rijetko se provodi u oftalmološkoj praksi. Istovremeno, ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza djeluje na istom principu kao i Tearscope te se pretpostavlja da bi kao i standardni uređaj mogao omogućiti mjerenje NIBUT-a. Primjenom toga jednostavnoga i pristupačnoga instrumenta mjerenje NIBUT-a konačno bi moglo naći mjesta u rutinskom radu oftalmologa.

### 1.3.8. ALGORITAM DIJAGNOSTIKE BOLESTI SUHOG OKA

U dijagnostici bolesti suhog oka ne postoji ni jedan test koji bi mogao na pouzdan način samostalno detektirati suho oko. Potrebno je koristiti se baterijom testova gdje svaki za sebe ispituje pojedini dio cjelokupnoga procesa složene patofiziologije bolesti suhog oka (73). Testovi su podložni međeutjecaju, stoga je važan njihov redoslijed da bi jedan na drugoga što manje utjecao. Sve postojeće dijagnostičke metode podložne su utjecaju nepatoloških parametara, npr. ispitivačeva i pacijentova subjektivnost, utjecaj okruženja, instrumentarija i sl.

TBUT je invazivan test koji zahtijeva kapanje fluoresceina u oko što remeti stabilnost suznog filma. Slično je i kod Schirmerova testa pri kojem se filter-trakica postavi u donji forniks što izaziva refleksno suženje. Nepravilno je neinvazivne testove, npr. NIBUT, provoditi nakon TBUT-a ili Schirmerova testa jer dobiveni rezultati neće biti pouzdani. Stoga se preporučuje prvo provoditi neinvazivne, a tek potom invazivne testove.

Preporučeni redoslijed pretraga prema invazivnosti (127):

1. **Anamneza**
2. **Neinvazivne pretrage** koje ne utječu na funkciju suznog filma:
  - 2.1. Pregled na biomikroskopu
  - 2.2. NIBUT
  - 2.3. Mjerenje debljine lipidnog sloja suza.
3. **Invazivne pretrage**, i to sljedećim redoslijedom:
  - 3.1. TBUT
  - 3.2. Bojenje fluoresceinom
  - 3.3. Ekspresija Meibomovih žlijezda
  - 3.4. Schirmerov test
  - 3.5. Bojenje bengalskim crvenilom.

Suho oko nije lako detektirati. Činjenica je da kod bolesti suhog oka simptomi i znakovi, te znakovi međusobno, slabo koreliraju što je i dokazano u brojnim istraživanjima (79 – 82, 158). Većina autora ističe da je bolest suhog oka praćena prisutnošću njezinih simptoma. Prema ranijem izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) iz 2007. godine, koja je donedavno bila najprihvaćenija, prisutnost simptoma bio je jedini kriterij za pozitivnu dijagnozu bolesti (3). Anamneza i upitnici nalaze se na prvome mjestu

prema važnosti i u novom izvješću Azijskog i Internacionalnog društva za suho oko, ADES i TFOS DEWS II (4, 5). No, oslanjajući se samo na simptome, može se propustiti veliki broj pacijenata s blažim oblikom bolesti koji simptome nemaju ili su oni blagi, a koji su idealni kandidati za ranu intervenciju te prevenciju i/ili odgodu težeg oblika bolesti.

Otkrivanjem novih činjenica i dokaza o složenoj patofiziologiji bolesti suhog oka i pronalaženjem novih metoda dijagnostike i načina liječenja, definicija bolesti i smjernice dijagnostike i njezina liječenja podvrgnute su stalnim promjenama. Prema novim i trenutno najprihvaćenijim smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II) iz 2017. godine dijagnostika bolesti suhog oka temelji se na procjeni njezinih simptoma i znakova (11). Minimalni kriteriji za dijagnozu te bolesti su prisutnost simptoma i najmanje jednoga patološkog znaka promijenjene homeostaze suznog filma.

Preporučeni redoslijed pretraga prema TFOS DEWS II izvješću (11):

**1. Utvrditi postojanje i kvantificirati simptome na temelju anamneze i upitnika**

- 1.1. DEQ-5
- 1.2. OSDI
- 1.3. Scheinov upitnik.

**2. Procjena stabilnosti suznog filma** – koristiti se NIBUT-om, a TBUT-om kada je NIBUT nedostupan

- 2.1. NIBUT
- 2.2. TBUT.

**3. Procjena osmolarnosti suznog filma**

- 3.1. TearLab.

**4. Bojenje površine oka vitalnim bojama**

- 4.1. Lizamin zelena boja – test je pozitivan ako ima više od devet obojenih točaka
- 4.2. Fluorescein – test je pozitivan ako ima više od pet obojenih točaka

Ostale pretrage smatraju se pomoćnima u dijagnostici bolesti suhog oka.

Prema najnovijim smjernicama nakon procjene simptoma drugi po važnosti je NIBUT. TBUT-om je pravilno koristiti se samo onda kada je NIBUT nedostupan. S obzirom na to da se NIBUT zbog nepraktičnosti rijetko rutinski provodi, TBUT praktički ostaje jedina metoda za svakodnevnu procjenu stabilnosti suznog filma. TearLab je komercijalni uređaj za mjerenje osmolarnosti suznog filma. Jednostavan je za uporabu te je minimalno invazivan, no nije jeftin jer zahtijeva korištenje jednokratnih sondi što je razlog da se, slično kao i NIBUT,



rijetko susreće u rutinskoj kliničkoj primjeni. Bojenje rožnice i spojnice vitalnim bojama jednostavan je i praktičan test, no prema rezultatima mnogih studija često je lažno negativan čak i kod pacijenata s težim oblicima bolesti te nije specifičan za bolest suhog oka (158).

Unatoč postojećim smjericama, rutinska dijagnostika bolesti suhog oka u današnje se vrijeme, nažalost, najvećim dijelom oslanja na procjenu njezinih simptoma i mjerenje TBUT-a.

## 2. HIPOTEZA

Neinvazivni test pucanja suznog filma (NIBUT) se, osim kompliciranim uređajem Tearscopeom, koji je nedostupan i nepraktičan za svakodnevnu uporabu, može mjeriti ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma, a vrijednosti neinvazivnoga testa pucanja suznog filma, izmjerene korištenjem ovog instrumenta, pokazuju pozitivnu povezanost s vrijednostima standardnoga invazivnog testa pucanja suznog filma (TBUT) drugim kliničkim znakovima i simptomima bolesti suhog oka te je zbog toga moguće uvođenje metode mjerenja NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta u svakodnevnu rutinsku kliničku praksu.

## 3. CILJEVI RADA

### 3.1. OPĆI CILJ

Cilj ovog istraživanja je utvrditi mogućnost neinvazivnog mjerenja pucanja suznog filma korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza.

### 3.2. SPECIFIČNI CILJEVI

- Ispitati postojanje razlike u vrijednostima neinvazivnog testa pucanja suznog filma (NIBUT-a) izmjerenima ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma među skupinama ispitanika s kliničkim simptomima i znakovima suhog oka i bez njih.
- Ispitati povezanost vrijednosti neinvazivnog testa pucanja suznog filma (NIBUT-a) izmjerenima ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza s vrijednostima standardnoga invazivnog testa pucanja suznog filma (TBUT).
- Ispitati povezanost vrijednosti neinvazivnog testa pucanja suznog filma (NIBUT-a) izmjerenima na ovaj način s drugim kliničkim znakovima i simptomima suhog oka.
- Ispitati ponovljivost i praktičnost metode mjerenja NIBUT-a promatranjem površinskog lipidnog sloja suza ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma.
- Uvesti metodu mjerenja NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza u svakodnevnu kliničku praksu za procjenu stabilnosti suznog filma.

## 4. MATERIJALI I METODE (ISPITANICI – UZORAK)

### 4.1. ETIČKA NAČELA

Ovo presječno istraživanje (engl. *cross-sectional study*) odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno u Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb u skladu sa svim primjenjivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje su sudjelovale u ovom znanstvenom istraživanju uključujući Osnove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske i Zakon o pravima pacijenata Republike Hrvatske.

Istraživanje je provela pristupnica (Sanja Vidas Pauk, dr. med.) tijekom rutinskog rada s pacijentima u općoj oftalmološkoj ambulanti Klinike za očne bolesti KBC-a Zagreb u razdoblju od 15. veljače. 2015. godine do 18. listopada 2016. godine.

### 4.2 ISPITANICI

Uzorak ispitanika bio je prigodan. U istraživanje je bilo uključeno ukupno 108 osoba obaju spolova, životne dobi iznad 18 godina, koje su bile na standardnome oftalmološkom pregledu, a koje su nakon detaljna upoznavanja s planom i svrhom istraživanja te načinom njegova provođenja potpisale informirani pristanak i dale svoju pismenu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju. Obavijest za ispitanike i suglasnost za sudjelovanje u istraživanju priloženi su na kraju ovog rada.

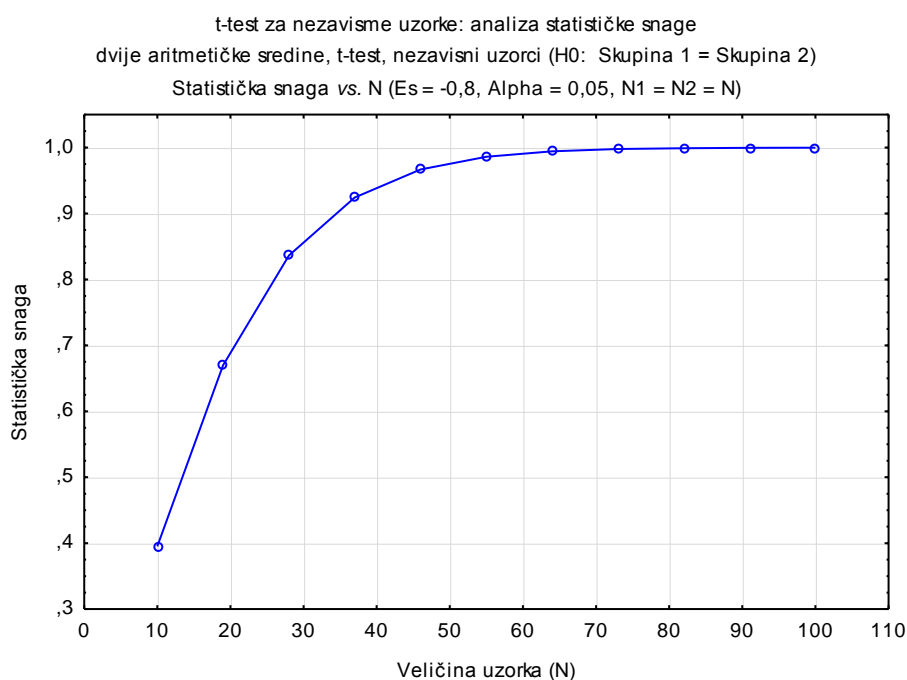
Prije uključivanja u istraživanje svakom od potencijalnih ispitanika je, osim utvrđivanja osnovnih općih i oftalmoloških anamnestičkih podataka, obavljen pregled prednjeg segmenta oka da bi se za istraživanje pažljivo odabrali ispitanici poštujući postavljene kriterije neuključivanja. U istraživanje stoga nisu bili uključene osobe s drugim oftalmološkim (trauma oka, operacija oka unatrag šest mjeseci, nošenje kontaktnih leća, glaukom, druge akutne ili kronične bolesti oka te ožiljne promjene površine oka ili vjeđa koje mogu utjecati na funkciju suznog filma) i neoftalmološkim bolestima i razlozima (kronična sistemska bolest, te lokalna i/ili sistemska terapija koja može utjecati na funkciju suznog filma kao i loša suradnja ispitanika) koji bi mogli utjecati na objektivnost dobivenih rezultata.

Veličina uzorka utvrđena je analizom statističke snage testa (engl. *power analysis*) primjenom statističkoga programskog paketa Statistica ver. 13.3 (Tablica 1., Slika 18.). U analizi statističke snage testa korišteni su rezultati preliminarnog istraživanja, provedenog u svrhu utvrđivanja veličine uzorka, na uzorku od 25 ispitanika u svakoj skupini (skupina ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i skupina ispitanika bez simptoma bolesti suhog oka). Temeljem rezultata analize statističke snage testa (potrebna veličina uzorka 34) (Tablica 1.), a radi jednostavnosti postupka ispitivanja i dodatne sigurnosti, kao potrebna veličina uzorka u istraživanju određeno je 50 ispitanika po skupini (ukupno 100 ispitanika).

**Tablica 1.** Izračun veličine uzorka.

	Izračun veličine uzorka (NIBUT excel tablica) dvije aritmetičke sredine, t-test, nezavisni uzorci (H0: Skupina 1 = Skupina 2)
	Vrijednosti
Aritmetička sredina (Skupina 1)	11,1600
Aritmetička sredina (Skupina 2)	17,5600
Standardna devijacija (Sigma)	8,0000
Standardizirani učinak (Es)	-0,8000
Stopa pogreške tipa I (Alpha)	0,0500
Kritična t-vrijednost	1,9966
Ciljna razina statističke značajnosti	0,9000
Stvarna razina statist. značajnosti za N	0,9015
Potreban uzorak (N) u svakoj skupini	34,0000

Skupina 1: skupina ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka; Skupina 2: skupina ispitanika bez simptoma bolesti suhog oka.



**Slika 18.**  
Odnos veličine uzorka i snage testa.

### 4.3. MATERIJAL

Za izvođenje ovog istraživanja korišteni su:

1. procijepna svjetiljka (BM 900, HAAG-STREIT) za pregled prednjeg segmenta oka – standardna oftalmološka oprema
2. fluoresceinske kapi (Fluorescein-Na 1 %, sol. a 10 mL, Gradska ljekarna Zagreb) za bojenje suznoga filma i defekata površine oka – standardna oftalmološka oprema
3. ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza tvrtke Allergan proizveden u promotivne svrhe
4. kronometar za mjerenje proteklog vremena od otvaranja oka pa do trenutka pucanja suznog filma na površini rožnice.

*Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza* modificirana je baterijska LED svjetiljka 10 cm dugačka i 5 cm široka (14, 15). Sastoji se od aluminijskog drška promjera 2 cm i plastičnoga konusnog kućišta promjera 5 cm. Izvor svjetla čini devet LED dioda, 5 mm u promjeru, koje su cirkumferentno postavljene unutar kućišta. Na vrhu kućišta nalazi se difuzni, mliječnobijelo zamućen plastični filtar. Lampa emitira snop hladnoga, difuznoga, bijelog svjetla, jačine oko 60 lm, koje ne zagrijava strukture očne površine. (Slika 19.)



**Slika 19.** Ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza. Instrument emitira snop difuznoga, hladnoga, bijelog svjetla.

Na površini oka stvara uniformnu refleksiju svjetla unutar koje se, metodom interferometrije, promatra lipidni sloj. Nije štetna, opasna ili neugodna za pacijente – izvor svjetla zadovoljava kriterije klase 1 izvora svjetla (Class 1: eye-safe under all operating conditions /LED and Laser Classification System in EN 60825-1 and IEC 60825-1/). Prijenosna je i stane u džep. Nije vezana na procijepnu svjetiljku te se može koristiti s više njih. Služi za rutinski pregled debljine lipidnog sloja suza i stoga bi se mogla koristiti i za rutinsko mjerenje NIBUT-a. Obje su metode neinvazivne pa ih je pravilno provesti na samom početku pregleda, prije nego se po oku na bilo koji način manipulira. Prednost ovog ručnog instrumenta pred semikvantitativnom interferometrijom je mogućnost detaljne analize površine lipidnog sloja, a time i mjerenje NIBUT-a. Instrumentom se tangencijalno osvjetljava površina oka s kratke udaljenosti te se dobiva refleksija svjetla koja je uniformnija, jače svjetline i prekriva značajno veću površinu rožnice. Praktičnija je i pristupačnija no Tearscope. Pogodna je za svakodnevnu primjenu u sklopu rutinskog rada, a njezinom se primjenom pregled produljuje samo 5 – 10 minuta. Omogućuje dinamički pregled lipidnog sloja suza, nije vezana na procijepnu svjetiljku pa se površina lipidnog sloja može promatrati iz različitih položaja, kutova i distanci.

## 4.4. METODE

### 4.4.1. REDOSLIJED I OPIS PREGLEDA

Sva ispitivanja provedena su u sklopu kliničkog rada s pacijentima u općoj oftalmološkoj ambulanti poštujući redoslijed rutinskoga oftalmološkog pregleda.

Osobama koje su zadovoljile kriterije uključivanja i dale pismeni pristanak za sudjelovanje u istraživanju učinjeno je sljedeće:

#### 4.4.1.1. Detekcija i kvantifikacija simptoma bolesti suhog oka

Na početku pregleda, za vrijeme uzimanja anamneze, svakom se ispitaniku postavio niz od deset pitanja radi utvrđivanja simptomatologije bolesti suhog oka. Kao osnova upitnika koristio se standardizirani Scheinov upitnik, modificiran dodatnim pitanjima relevantnim za ovo istraživanje. (Tablica 2.)

**Tablica 2.** Upitnik korišten u istraživanju (89, 90).

Scheinov upitnik	Pitanje 1. Imate li ikada osjećaj suhoće u očima?	0 (nikada) 1 2 3 4 (stalno)
	Pitanje 2. Imate li ikada osjećaj pijeska u očima?	0 1 2 3 4
	Pitanje 3. Imate li ikada osjećaj pečenja u očima?	0 1 2 3 4
	Pitanje 4. Jesu li Vam oči ikada crvene?	0 1 2 3 4
	Pitanje 5. Imate li krustice na trepavicama?	0 1 2 3 4
	Pitanje 6. Je li Vam teško otvoriti oči ujutro?	0 1 2 3 4
Dodatna pitanja	Pitanje 7. Primjećujete li smetnje nakon duljeg rada za računalom, gledanja TV-a, vožnje autom, boravka u klimatiziranu prostoru, na vjetru ili hladnoći?	0 1 2 3 4
	Pitanje 8. Primjećujete li pojačano suženje oka nakon rada za računalom, gledanja TV-a, vožnje autom, boravka u klimatiziranu prostoru, na vjetru ili zimi?	0 1 2 3 4
	Pitanje 9. Imate li sušu ili masniju kožu čela?	0 (suha) 1 2 3 4 5 6 (masna)
	Pitanje 10. Imate li sušu ili masniju kožu obraza?	0 1 2 3 4 5 6

Pitanja od 1. do 6. standardizirana su pitanja Scheinova upitnika prevedena na hrvatski jezik. Radi detaljnijeg otkrivanja simptoma i pacijenata s graničnim smetnjama, istraživač je svim ispitanicima postavio četiri dodatna pitanja (pitanja od 7. do 10.). Na pitanja od 1. do 8., ovisno o učestalosti simptoma, pacijenti su odgovarali numeričkom skalom od 0 (nikada) do 4 (stalno), dok su na pitanja 9. i 10. odgovori bili graduirani od 0 (suha koža) do 6 (masna koža).

#### 4.4.1.2. Procjena znakova bolesti suhog oka

Nakon provedenog upitnika uslijedila je procjena znakova bolesti suhog oka, i to sljedećim redoslijedom:

##### 1. Neinvazivni testovi:

- 1.1. NIBUT
- 1.2. Način pucanja suznog filma na površini oka
- 1.3. Debljina lipidnog sloja suza
- 1.4. Hiperemija spojnice
- 1.5. LIPCOF.

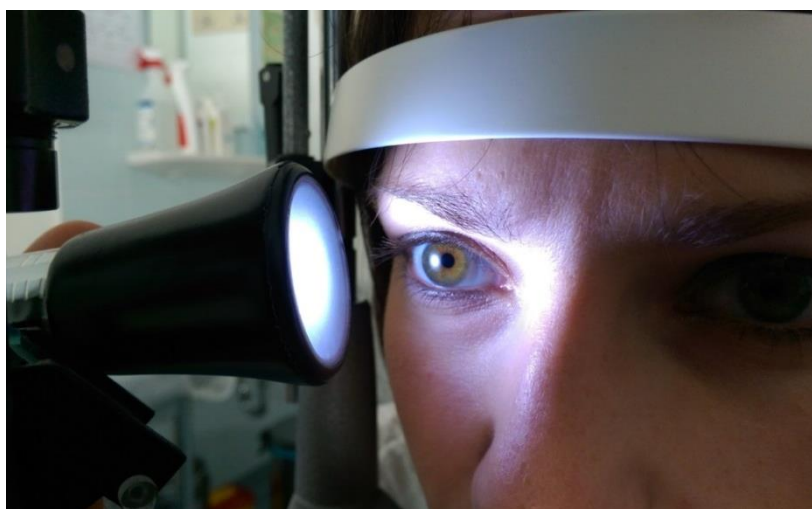
##### 2. Invazivni testovi:

- 2.1. TBUT
- 2.2. Bojenje rožnice fluoresceinom.



#### 4.4.1.2.1. Neinvazivni test pucanja suznog filma

NIBUT se provodio na samom početku rutinskog pregleda na procijepnoj svjetiljci, koristeći ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza i kronometar. Ispitivač je u svoju lijevu ruku uzeo instrument te izmjerio NIBUT desnog oka, potom instrument prebacio u desnu ruku i izmjerio NIBUT lijevog oka. Njegova primjena bila je vrlo jednostavna i praktična jer je instrument malih dimenzija. Instrument se postavljao postranično od oka, nekoliko centimetara udaljen od rožnice, no ne preudaljen da bi refleksija svjetla na njezinoj površini bila što veća i što uniformnija. Pritom nije smio doći u kontakt s okom, vjeđama ili trepavicama da ne bi nastupilo refleksno suzenje. Ispitanici su zamoljeni da nekoliko puta trepnu punim treptajem, potom više ne trepću. U periodu između treptaja instrument je emitirao snop difuznoga, bijelog svjetla tangencijalno na površinu rožnice te se time kreirala uniformna refleksija široke baze koja je prekrivala  $\frac{1}{4}$  njezine površine. (Slika 20.)



**Slika 20.** Mjerenje NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza.

Za pregled čitave površine rožnice i točnu detekciju mjesta pucanja suznog filma instrument se pomicao u svim njezinim zonama. S obzirom na to da instrument nije bio vezan za procijepnu svjetiljku, svjetlo instrumenta moglo se projicirati iz različitih udaljenosti, pozicija i kutova čime je omogućena detekcija pucanja suznog filma visoke prostorne i vremenske rezolucije. To je još jedna prednost ručnog instrumenta nad Tearscopeom jer je isti pričvršćen na procijepnu svjetiljku te obasjava površinu oka iz samo jedne pozicije. U refleksiji svjetla potom se, pomoću procijepne svjetiljke u povećanju od 16 puta, vizualizirao

lipidni sloj koji se prikazao poput valovitih i obojenih horizontalnih linija nalik ulju na vodi. U trenutku njegova pucanja, u refleksiji svjetla jasno su se vizualizirale tamne pukotine i nepravilnosti u obojenim linijama. Vrijeme koje je proteklo od otvaranja oka pa do pojave prve nepravilnosti izmjereno je kronometrom te zabilježeno kao vrijednost NIBUT-a za to mjerenje u sekundama.

***Postupak mjerenja NIBUT-a ručnim instrumentom – shematski prikaz:***

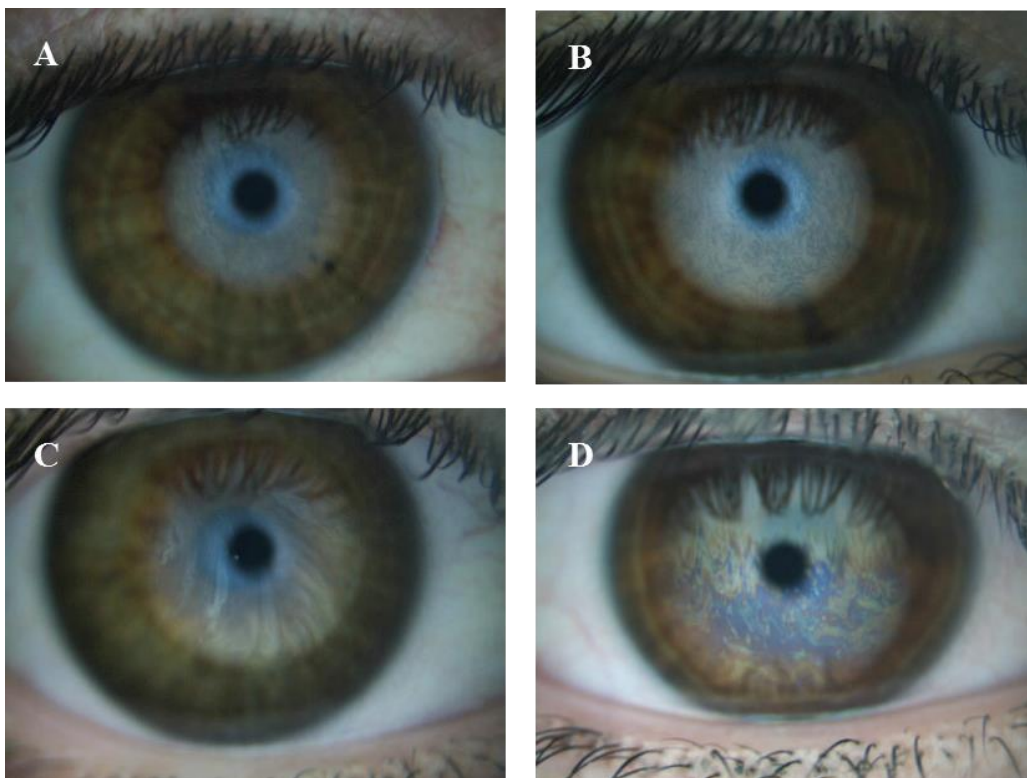
1. Ispitanika se zamoli da udobno sjedne za procijepnu svjetiljku.
2. Potom ga se zamoli da 3 – 5 puta trepne punim treptajem i više ne trepće.
3. Zatim ga se zamoli da prilikom testiranja oči drži otvorene koliko god je moguće, onoliko koliko ih drži i inače (ne neprirodno jako otvorene, ni jedva otvorene).
4. Pri pregledu na procijepnoj svjetiljci ispitivač uzima ručnu lampu za procjenu debljine lipidnog sloja suza te postranično osvjetljava očnu površinu tako da se dobije uniformna refleksija svjetla na njoj. U refleksiji svjetla na rožnici promatra lipidni sloj procijepnom svjetiljkom u povećanju 16 puta. Potom zamoli ispitanika da još jednom trepne i više ne trepće te pomoću kronometra mjeri vrijeme u sekundama od otvaranja oka do pojave prvih nepravilnosti, tj. pukotina u lipidnom sloju.
5. Vrijeme koje protekne od otvaranja oka do pojave nepravilnosti bilježi se kao vrijednost NIBUT-a za to mjerenje, a način pucanja suznog filma na površini oka bilježi se na dva načina: u obliku pukotina ili granularno.
6. Postupak se ponovi tri puta, najprije za desno, potom za lijevo oko.
7. Ako ispitanik trepne prije pojave pukotina u suznom filmu, vrijeme treptaja smatra se vrijednošću NIBUT-a za to mjerenje.
8. Ako se vrijednosti triju mjerenja za isto oko značajno razlikuju (svako sljedeće mjerenje daje značajno kraću ili dulju vrijednost NIBUT-a), nastavi se ponavljati testiranje dok se ne dobiju tri slične vrijednosti.

**4.4.1.2.2. Debljina lipidnog sloja suza**

Lipidni sloj suza u refleksiji svjetla na površini oka vizualizira se poput obojenih, valovitih i horizontalnih linija. Princip procjene njegove debljine temelji se na činjenici da što je lipidni sloj suza deblji, to se u njemu vidi više boja (kao ulje na vodi) (14). Kada je on deblji, ima više boja; one su intenzivnije, a horizontalne linije su gušće i pravilnije. Tanak lipidni sloj izgleda homogeno, ima manje boja, one su slabijeg intenziteta do sive, a linije su rjeđe, nepravilne i okomite. Izrazito tanak lipidni sloj teško je vidljiv.

Debljina lipidnog sloja (engl. *Lipid Layer Thickness*; LLT) najčešće se gradiira grafičkom skalom od 1 do 5, opisanom u radu J. P. Guillon (26):

1. *Izrazito tanak lipidni sloj*: siv, homogeni lipidni sloj s rijetkim okomitim linijama (debljina 13 – 15 nm) (Slika 21. A)
2. *Tanak lipidni sloj*: siv, inhomogeni lipidni sloj s valovitim linijama (debljina 30 – 50 nm) (Slika 21. B)
3. *Lipidni sloj uredne debljine*: valovite obojene linije, slabijeg intenziteta (debljina 50 – 80 nm)
4. *Lipidni sloj uredne debljine*: valovite obojene linije jačeg intenziteta (debljina 60 – 90 nm) (Slika 21. C)
5. *Deblji lipidni sloj*: guste, obojene valovite linije jačeg intenziteta (debljina 90 – 140 nm) (Slika 21. D)



**Slika 21.** Procjena debljine lipidnog sloja suza: A. Izrazito tanak lipidni sloj; B. Tanak lipidni sloj; C. Lipidni sloj uredne debljine; D. Deblji lipidni sloj (26).

Procjena debljine lipidnog sloja suza u ovom istraživanju obavljala se neposredno prije mjerenja NIBUT-a pomoću ručnog instrumenta i procijepne svjetiljke.

#### 4.4.1.2.3. Hiperemija spojnice

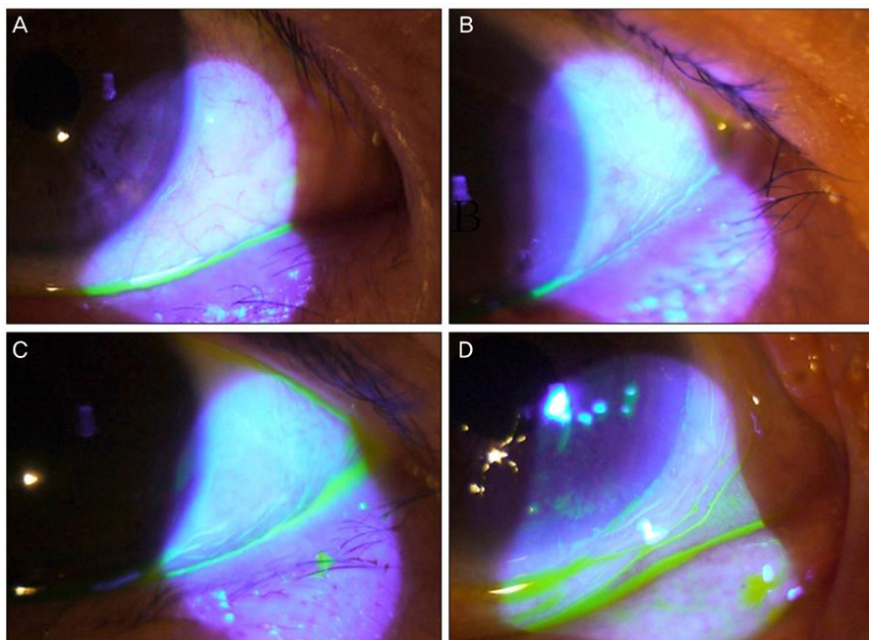
Za procjenu hiperemije spojnice na procijepnoj svjetiljci koristila se CCLRU (engl. *Cornea and Contact Lens Research Unit*) skala (111). Nalaz je stupnjevan od 0 (bez hiperemije) do 4 (izrazita hiperemija). (Slika 22.)



**Slika 22.** CCLRU skala (25).

#### 4.4.1.2.4. Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe

LIPCOF je stupnjevan od 0 pa do 3 prema radu Höha i sur. (102). (Slika 23.)



**Slika 23.** Stupnjevanje LIPCOF-a: A. Stupanj 0: nema nabora; B. Stupanj 1: jedan paralelni nabor; C. Stupanj 2: dva paralelna nabora; D. Stupanj 3: više od dvaju paralelnih nabora. (102)

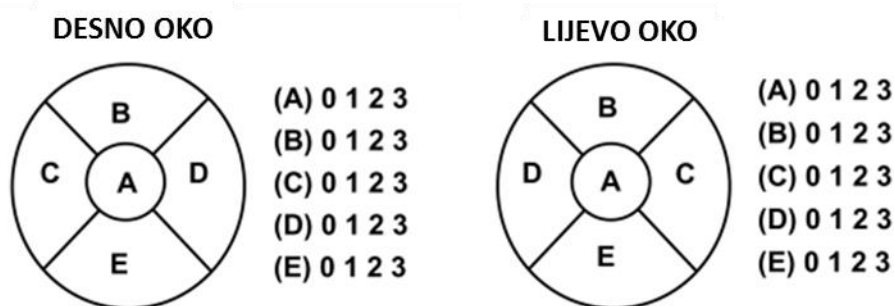
#### 4.4.1.2.5. Invazivni test pucanja suznog filma

U ovom istraživanju korišten je sljedeći postupak provođenja TBUT testa (25):

1. Ispitaniku se, tijekom pregleda na procijepnoj svjetiljci, nakon što su se obavili svi neinvazivni testovi, kapnula jedna kap 1-postotne otopine fluoresceina u donji forniks. Komercijalno dostupne 5 mm široke fluoresceinske trakice nisu korištene u ovom istraživanju zbog više razloga: one otpuštaju veći volumen fluoresceina u oko nego što je volumen jedne kapi; nadalje, volumen fluoresceina koji se otpusti u oko iz trakice nije uvijek jednak jer ovisi o volumenu fiziološke otopine kojom je trakica namočena, o volumenu otopine koji se otrese prije doticanja spojnice te vremenu kontakta trakice i spojnice. Teško je, također, očekivati da će ispitivač trakicu uvijek namočiti istim volumenom, otresti je jednakom snagom i dotaknuti spojnicu trakicom u istom periodu. S druge strane, volumen jedne kapi otopine uvijek je jednak ili sličan, što je bitno za bolju ponovljivost i reproducibilnost testa.
2. Višak otopine fluoresceina obrisao se komadićem papira.
3. Ispitanik je zamoljen da 3 – 5 puta trepne punim treptajem.
4. Nakon treptanja, ispitanik je zamoljen da prilikom testiranja drži oči što otvorenijima, koliko god je moguće, odnosno onako kao što ih drži i inače (ne neprirodno jako otvorene, ni jedva otvorene).
5. Ispitivač je na procijepnoj svjetiljci u kobaltno plavom svjetlu promatrao ispitanikov suzni film obojen otopinom fluoresceina, zamolio ispitanika da još jednom trepne i više ne trepće, te mjerio vrijeme od otvaranja oka do pojave pukotina u suznom filmu. Vrijeme u sekundama mjereno je kronometrom.
6. Dobivena vrijednost u sekundama zabilježena je kao vrijednost TBUT-a za to mjerenje.
7. Postupak je ponovljen tri puta, najprije za desno, potom za lijevo oko.
8. Ako su se vrijednosti triju mjerenja značajno razlikovale (svako sljedeće mjerenje dalo je značajno kraću ili dulju vrijednost TBUT-a) nastavilo se ponavljati testiranje dok se nisu dobile tri slične vrijednosti.

#### 4.4.1.2.6. Bojenje rožnice fluoresceinom

Pri procjeni bojenja rožnice fluoresceinom koristila se National Eye Institute / Industry Workshop (NEI) skala (6). Rožnica je podijeljena u pet zona (centralna, gornja, donja, nazalna i temporalna). Intenzitet bojenja rožnice u svakoj se zoni ocjenjivao 0 – 3, a najveći ukupni zbroj bodova bio je 15 (Slika 24.).



**Slika 24.** NEI skala bojenja rožnice fluoresceinom (6).

## 4.5. STATISTIČKA OBRADA

U obradi podataka primijenjena je deskriptivna statistika. Kontinuirane, numeričke varijable opisane su centralnom vrijednošću i mjerama raspršenosti (aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija i medijan, raspon), a kategorijalne varijable prikazane su apsolutnim (N) i relativnim (%) frekvencijama.

Normalnost distribucije varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom, a homogenost varijance Levenovim testom. Razlike u vrijednostima kontinuiranih varijabli između skupina analizirane su neparametrijskim testovima (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis; Wilcoxon, Friedman ANOVA). Za testiranje razlika u vrijednostima izmjerenih nezavisnih varijabli primijenjeni su testovi: Mann-Whitney (između dviju skupina) i Kruskal-Wallis (među trima skupinama), a za testiranje razlika u vrijednostima izmjerenih zavisnih varijabli korišteni su Wilcoxon (između dviju skupina) i Friedman ANOVA test (među trima skupinama). Za post-hoc analizu korišten je Wilcoxon test. Razlike u vrijednostima kategorijalnih varijabli među skupinama ispitane su Hi-kvadrat testom (nezavisne varijable) i McNemar testom (zavisne varijable). Povezanost i smjer povezanosti varijabli testirani su Spearman Rank Order neparametrijskim testom korelacije, a jačina i neovisnost povezanosti procijenjeni su univarijantnom i multiplom logističkom regresijom. Dijagnostička točnost ispitana je primjenom ROC analize, specifičnosti i osjetljivosti, te pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti.

Statistički značajnom smatrane su razlike  $p < 0,05$ . U analizi podataka korišteni su programski paketi Statistica ver. 13.3 (TIBCO Inc., USA) i SPSS ver. 23.0 (IBM, USA).

## 5. REZULTATI

### 5.1. OPIS ISTRAŽIVAČKOG UZORKA

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 108 ispitanika obaju spolova, među kojima 31 (27,7 %) muškarac i 77 (71,3 %) žena. Prosječna životna dob ispitanika bila je  $57,11 \pm 16,86$  godina (Med 61, Min 18, Max 87; SE 1,62).

Ispitanici su, na temelju simptomatologije bolesti suhog oka utvrđene standardiziranim Scheinovim upitnikom i dodatnim pitanjima, bili podijeljeni u dvije skupine:

**Skupina 1** (N=56) obuhvaćala je ispitanike sa simptomima bolesti suhog oka

**Skupina 2** (N=52) obuhvaćala je ispitanike kontrolne skupine koji nisu imali takve simptome.

#### *Kriterij podjele ispitanika po skupinama:*

Kriterij za uključivanje ispitanika u skupinu sa simptomima bolesti suhog oka bio je prisutnost simptoma te bolesti procijenjena ukupnim zbrojem bodova Scheinova upitnika i dodatnih pitanja (pitanja br. 7. i 8.)  $\geq 1$ .

Kriterij za uključivanje ispitanika u kontrolnu skupinu bio je odsutnost simptoma bolesti suhog oka procijenjena ukupnim zbrojem bodova Scheinova upitnika i dodatnih pitanja (pitanja br. 7. i 8.) = 0.

Pitanja br. 9. i 10. nisu bila kriterij za podjelu ispitanika u skupine.

Budući da težina simptoma često ne korelira s prisutnošću i težinom bolesti suhog oka, ne postoji pouzdan zbroj bodova upitnika koji bi točno podijelio osobe na one sa suhim okom i one bez njega. Temeljem navedenoga, sama prisutnost ili odsutnost subjektivnih tegoba bila je osnova za podjelu ispitanika u skupine.

#### 5.1.1. DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA

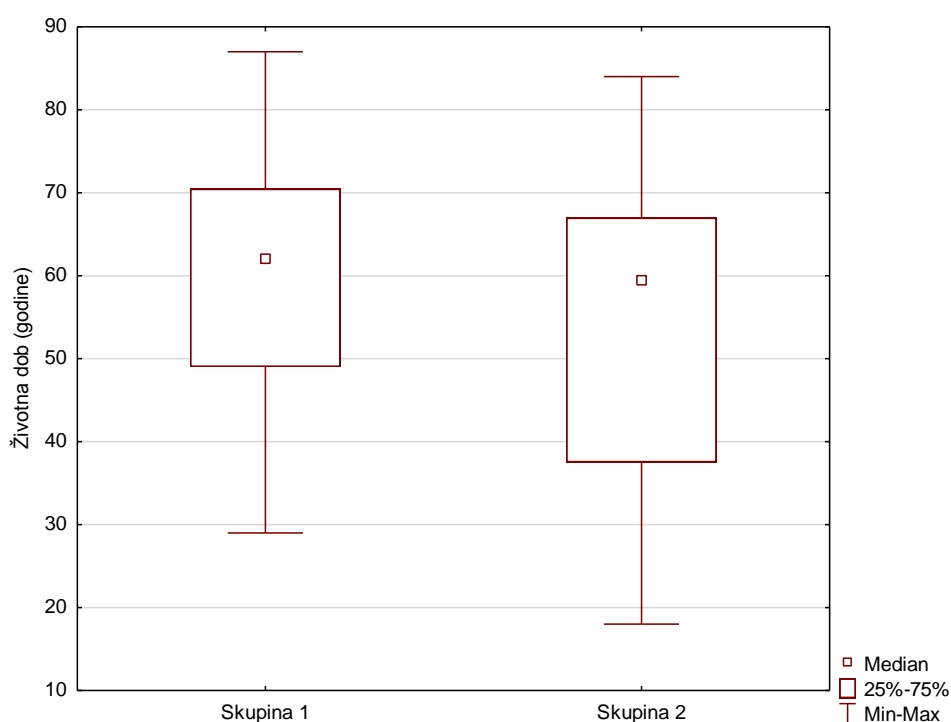
U Tablici 3. prikazana su demografska obilježja ispitanika podijeljenih u dvije ispitivane skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

**Tablica 3.** Demografska obilježja ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup> Chi-<sup>b</sup></b>	<b>p</b>
Životna dob (god.)*	60,63±13,78 (62, 29-87)	53,31±19,07 (59, 18-84)	1,832 <sup>a</sup>	0,067 <sup>a</sup>
Spol (m/ž)**	12/44 (21,4/78,6)	19/33 (36,5/63,5)	3,008 <sup>b</sup>	0,083 <sup>b</sup>

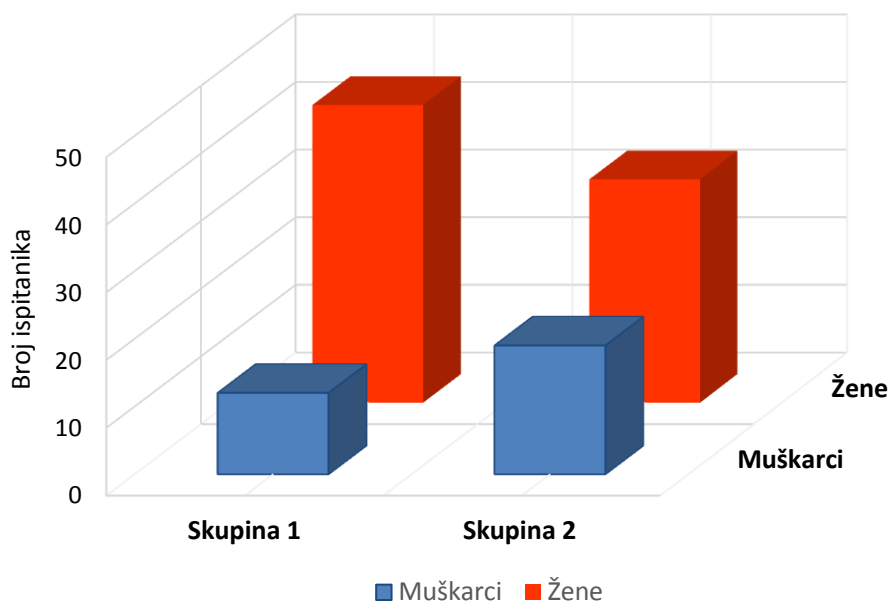
\*  $\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) \*\* N (%) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Hi-kvadrat test df = 1

Ispitanici obiju skupina nisu se značajno razlikovali po životnoj dobi i spolu (Tablica 3.) iako je u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka bilo više osoba starije životne dobi i ženskog spola nego u kontrolnoj skupini ispitanika (Slike 25. i 26).



**Slika 25.** Usporedba ispitanika dviju ispitivanih skupina prema životnoj dobi.





**Slika 26.** Usporedba ispitanika dviju ispitivanih skupina prema spolu

### 5.1.2. SIMPTOMI BOLESTI SUHOG OKA

Srednja vrijednost ukupnog zbroja bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima je u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka bila  $8,86 \pm 3,49$  (Med 9, Min 1, Max 15; SE 0,47) (Tablica 4.). U kontrolnoj skupini ista je bila 0,00 jer je i kriterij uključivanja u kontrolnu skupinu bila potpuna odsutnost tih simptoma.

**Tablica 4.** Simptomi bolesti suhog oka prema zbroju bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima te ukupnom zbroju bodova u skupini ispitanika sa simptomima.

Simptomi bolesti suhog oka	Skupina 1 (N=56)
Zbroj bodova u Scheinovu upitniku*	$5,71 \pm 2,74$ (6, 1-12)
Zbroj bodova na dodatnim pitanjima*	$3,25 \pm 1,31$ (4, 1-6)
Ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima*	$8,86 \pm 3,49$ (9, 1-15)

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

Nije bilo statistički značajne povezanosti između ukupnog zbroja simptoma bolesti suhog oka i životne dobi ispitanika s tim simptomima ( $p = 0,063$ ) iako je korelacija bila granično značajna s pozitivnim predznakom što ukazuje na tendenciju da se s povećanjem životne dobi povećavaju i subjektivne smetnje vezane uz suho oko. (Tablica 5.)

**Tablica 5.** Korelacija ukupnog zbroja bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima te životnoj dobi ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

	Životna dob (godine)		
	Spearman R	t(N-2)	p
<b>Ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima</b>	0,179	1,879	0,063

Žene su imale više simptoma bolesti suhog oka nego muškarci, no utvrđena razlika nije bila statistički značajna ( $p = 0,212$ ) (Tablica 6.). Ovdje treba naglasiti da zbog velike asimetrije u veličini uzoraka rezultat statističkog testiranja značajnosti razlike prema spolu ne možemo smatrati pouzdanim i da bi povećanje uzorka muškaraca pokazalo je li opažena tendencija razlike statistički značajna.

**Tablica 6.** Ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka podijeljenima u dvije skupine prema spolu.

	<b>Muškarci</b> (N=12)	<b>Žene</b> (N=44)	<b>Z</b>	<b>p</b>
Ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima*	7,91±3,26 (7,5, 4-15)	9,11±3,55 (10, 1-15)	-1,248	0,212

\*  $\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) Mann-Whitney test

## 5.2. NEINVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA

Provedena su tri mjerenja NIBUT-a desnoga i tri mjerenja NIBUT-a lijevog oka. Rezultati pojedinih mjerenja prikazani su u Tablici 7. Vrijednosti NIBUT-a u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka kretale su se u rasponu od 2 do 37 sekunda, a vrijednosti NIBUT-a u ispitanika kontrolne skupine u rasponu od 3 do 126 sekunda. Skupine ispitanika su se statistički značajno razlikovale u svim trima mjerenjima NIBUT-a desnoga i svim trima mjerenjima NIBUT-a lijevog oka ( $p < 0,001$ ). Ispitanici sa simptomima bolesti suhog oka imali su statistički značajno kraći NIBUT desnoga i lijevog oka u svim mjerenjima nego ispitanici kontrolne skupine. Friedmanovim ANOVA testom nije utvrđena statistički značajna razlika među trima mjerenjima NIBUT-a desnoga i lijevog oka unutar ispitivanih skupina.

**Tablica 7.** Tri mjerenja NIBUT-a desnoga i tri mjerenja NIBUT-a lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
1. NIBUT desnog oka (sekunde)*	9,36±6,85 (7, 3-35)	21,33±13,99 (17, 4-62)	5,939 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
2. NIBUT desnog oka (sekunde)*	9,39±6,34 (7, 2-30)	22,90±18,37 (17, 7-126)	6,250 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
3. NIBUT desnog oka (sekunde)*	10,19±7,18 (8, 2-32)	21,96±13,29 (19, 3-72)	5,786 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
1. NIBUT lijevog oka (sekunde)*	8,96±6,32 (7, 2-30)	19,88±13,37 (17, 3-70)	5,441 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
2. NIBUT lijevog oka (sekunde)*	9,05±6,58 (7, 3-35)	22,00±14,52 (19, 3-89)	6,050 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
3. NIBUT lijevog oka (sekunde)*	9,50±7,49 (7, 2-37)	22,44±14,51 (20, 5-90)	6,186 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Chi<sup>b</sup></b>	10,227	9,343		
<b>p<sup>b</sup></b>	0,061	0,096		

\*  $\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Friedman ANOVA test df = 5

Unutar obiju skupina ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i kontrolnom skupinom, nije utvrđena statistički značajna razlika prema životnoj dobi i spolu ni u jednom od triju mjerenja NIBUT-a desnog oka, kao ni u trima mjerenjima NIBUT-a lijevog oka (Tablice 8. i 9.).

**Tablica 8.** Analiza razlika u mjerenjima NIBUT-a desnoga i lijevog oka prema životnoj dobi i spolu u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

	Životna dob		Spol	
	H	p <sup>a</sup>	H	p <sup>a</sup>
1. NIBUT desnog oka (sekunde)	3,032	0,219	0,274	0,594
2. NIBUT desnog oka (sekunde)	2,367	0,306	0,338	0,561
3. NIBUT desnog oka (sekunde)	2,829	0,243	0,812	0,368
1. NIBUT lijevog oka (sekunde)	2,092	0,351	0,026	0,872
2. NIBUT lijevog oka (sekunde)	1,427	0,489	0,053	0,818
3. NIBUT lijevog oka (sekunde)	2,692	0,260	0,794	0,778

<sup>a</sup> Kruskal-Wallis test

**Tablica 9.** Analiza razlika u mjerenjima NIBUT-a desnoga i lijevog oka prema životnoj dobi i spolu u ispitanika kontrolne skupine.

	Životna dob		Spol	
	H	p <sup>a</sup>	H	p <sup>a</sup>
1. NIBUT desnog oka (sekunde)	1,439	0,487	0,192	0,662
2. NIBUT desnog oka (sekunde)	0,244	0,885	1,268	0,260
3. NIBUT desnog oka (sekunde)	0,163	0,922	0,482	0,487
1. NIBUT lijevog oka (sekunde)	2,063	0,356	0,275	0,593
2. NIBUT lijevog oka (sekunde)	2,543	0,275	2,679	0,102
3. NIBUT lijevog oka (sekunde)	1,648	0,439	0,020	0,887

<sup>a</sup> Kruskal-Wallis test

### 5.3. INVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA

Tablica 10. prikazuje rezultate triju mjerenja TBUT-a desnoga i rezultate triju mjerenja TBUT-a lijevog oka. Vrijednosti TBUT-a u ispitanika sa simptomima kretale su se u rasponu od 2 do 29 sekunda, a vrijednosti TBUT-a u kontrolnoj skupini od 3 do 50 sekunda. Skupine ispitanika statistički su se značajno razlikovale u svim trima mjerenjima TBUT-a oba oka ( $p < 0,001$ ). Ispitanici sa simptomima imali su statistički značajno kraći TBUT oba oka u svim mjerenjima nego ispitanici kontrolne skupine. Friedmanovim ANOVA testom u ispitanika sa simptomima nije utvrđena statistički značajna razlika među pojedinim mjerenjima TBUT-a oba oka ( $p = 0,065$ ), no u kontrolnoj skupini razlika među istima bila je statistički značajna ( $p < 0,001$ ). U svakom sljedećem mjerenju TBUT oba oka bio je duži. Post-hoc Wilcoxon test pokazao je da su statistički značajne bile razlike između prvog i trećeg mjerenja TBUT-a desnog oka ( $p = 0,003$ ), pa između prvog i trećeg, te drugog i trećeg mjerenja TBUT-a lijevog oka ( $p = 0,001$ ;  $p = 0,008$ ). Razlike između drugog i ostalih mjerenja TBUT-a desnog oka ( $p = 0,059$ ;  $p = 0,149$ ) te između prvog i drugog mjerenja TBUT-a lijevog oka ( $p = 0,323$ ) nisu bile značajne.

**Tablica 10.** Tri mjerenja TBUT-a desnoga i tri mjerenja TBUT-a lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnost/odsutnosti simptoma suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
1. TBUT desnog oka (sekunde)*	6,41±4,52 (5, 2-29)	9,92±5,44 (9, 2-22)	3,692 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
2. TBUT desnog oka (sekunde)*	6,27±4,56 (5, 2-24)	11,61±7,67 (8, 3-30)	4,381 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
3. TBUT desnog oka (sekunde)*	6,69±5,06 (5, 2-27)	13,42±10,34 (10, 3-48)	4,175 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
1. TBUT lijevog oka (sekunde)*	7,19±5,26 (5, 2-27)	12,09±7,18 (10, 3-30)	5,441 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
2. TBUT lijevog oka (sekunde)*	6,64±4,92 (5, 2-27)	13,71±9,48 (10, 3-45)	4,907 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
3. TBUT lijevog oka (sekunde)*	7,41±5,65 (5, 2-25)	15,17±9,88 (13, 3-50)	4,356 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Chi-<sup>b</sup></b>	10,357	30,376		
<b>p<sup>b</sup></b>	0,065	<b>&lt;0,001</b>		

\*  $\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Friedman ANOVA test df = 5

Unutar skupine ispitanika sa simptomima nije utvrđena statistički značajna razlika prema životnoj dobi i spolu ni u jednom od triju mjerenja TBUT-a desnog oka i ni u jednom od triju mjerenja TBUT-a lijevog oka (Tablica 11.).

**Tablica 11.** Analiza razlika u mjerenjima TBUT-a desnoga i lijevog oka prema životnoj dobi i spolu u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

	Životna dob		Spol	
	H	p <sup>a</sup>	H	p <sup>a</sup>
1. TBUT desnog oka (sekunde)	0,707	0,702	0,673	0,412
2. TBUT desnog oka (sekunde)	3,259	0,196	0,772	0,379
3. TBUT desnog oka (sekunde)	4,902	0,086	1,858	0,173
1. TBUT lijevog oka (sekunde)	1,690	0,429	1,333	0,248
2. TBUT lijevog oka (sekunde)	3,327	0,189	0,871	0,351
3. TBUT lijevog oka (sekunde)	3,699	0,157	0,029	0,864

<sup>a</sup> Kruskal-Wallis test

No, unutar kontrolne skupine utvrđena je statistički značajna razlika prema životnoj dobi u svim trima mjerenjima TBUT-a desnog oka (Tablica 10.). Osobe starije životne dobi imale su značajno kraći TBUT desnog oka u svim trima mjerenjima nego osobe mlađe dobi. Vrijednosti TBUT-a lijevog oka u svim trima mjerenjima nisu se statistički značajno razlikovale prema životnoj dobi ispitanika. U istoj skupini, također, nije bilo statistički značajne razlike prema spolu ni u jednom od triju mjerenja TBUT-a desnog oka i ni u jednom od triju mjerenja TBUT-a lijevog oka (Tablica 12.).

**Tablica 12.** Analiza razlika u mjerenjima TBUT-a desnoga i lijevog oka prema životnoj dobi i spolu u ispitanika kontrolne skupine.

	Životna dob		Spol	
	H	p <sup>a</sup>	H	p <sup>a</sup>
1. TBUT desnog oka (sekunde)	8,967	<b>0,011</b>	1,862	0,172
2. TBUT desnog oka (sekunde)	10,026	<b>0,007</b>	2,633	0,105
3. TBUT desnog oka (sekunde)	7,394	<b>0,025</b>	3,383	0,066
1. TBUT lijevog oka (sekunde)	4,898	0,086	0,529	0,467
2. TBUT lijevog oka (sekunde)	4,370	0,112	0,531	0,466
3. TBUT lijevog oka (sekunde)	1,252	0,535	1,408	0,236

<sup>a</sup> Kruskal-Wallis test

#### 5.4. KORELACIJE VRIJEDNOSTI NIBUT-a S VRIJEDNOSTIMA TBUT-a

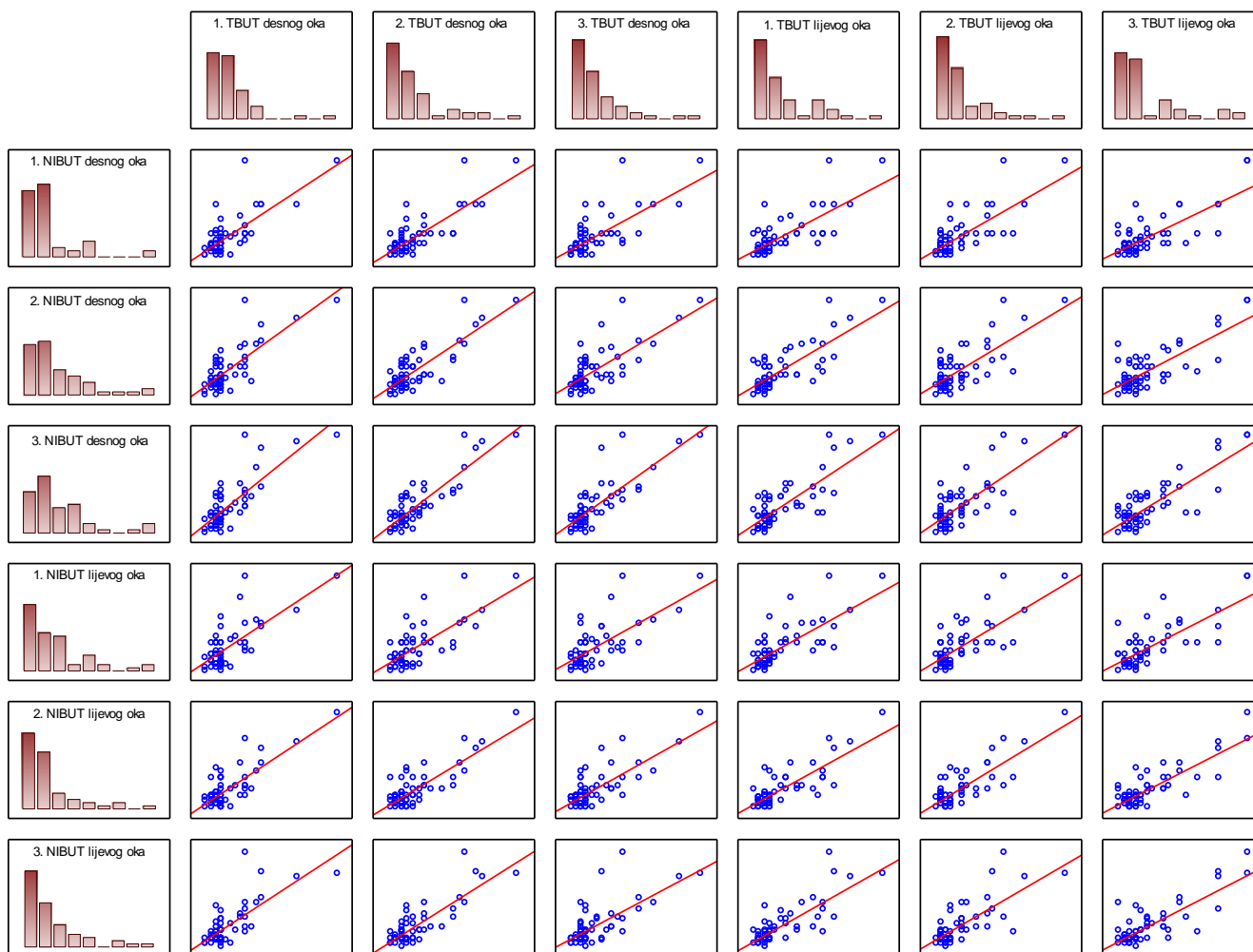
U Tablici 13. prikazane su korelacije vrijednosti NIBUT-a izmjerene ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza s vrijednostima standardnoga invazivnog TBUT-a u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (Skupina 1). Vrijednosti svih triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka bile su statistički značajno pozitivno povezane s vrijednostima svih triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka. Utvrđene korelacije u svim mjerenjima imale su veliku statističku značajnost ( $p < 0,001$ ).

**Tablica 13.** Korelacije vrijednosti triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka s vrijednostima triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima suhog oka.

		<b>1. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>2. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>3. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>1. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>	<b>2. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>	<b>3. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>
<b>1. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,605 5,587 <b>&lt;0,001</b>	0,634 6,025 <b>&lt;0,001</b>	0,638 6,097 <b>&lt;0,001</b>	0,646 6,231 <b>&lt;0,001</b>	0,601 5,527 <b>&lt;0,001</b>	0,560 4,968 <b>&lt;0,001</b>
<b>2. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,593 5,422 <b>&lt;0,001</b>	0,643 6,172 <b>&lt;0,001</b>	0,640 6,132 <b>&lt;0,001</b>	0,654 6,365 <b>&lt;0,001</b>	0,517 4,438 <b>&lt;0,001</b>	0,551 4,856 <b>&lt;0,001</b>
<b>3. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,646 6,230 <b>&lt;0,001</b>	0,709 7,400 <b>&lt;0,001</b>	0,734 7,943 <b>&lt;0,001</b>	0,690 7,013 <b>&lt;0,001</b>	0,596 5,459 <b>&lt;0,001</b>	0,651 6,312 <b>&lt;0,001</b>
<b>1. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,537 4,678 <b>&lt;0,001</b>	0,615 5,746 <b>&lt;0,001</b>	0,592 5,399 <b>&lt;0,001</b>	0,707 7,363 <b>&lt;0,001</b>	0,589 5,364 <b>&lt;0,001</b>	0,650 6,293 <b>&lt;0,001</b>
<b>2. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,507 4,322 <b>&lt;0,001</b>	0,595 5,453 <b>&lt;0,001</b>	0,590 5,381 <b>&lt;0,001</b>	0,691 7,040 <b>&lt;0,001</b>	0,593 5,417 <b>&lt;0,001</b>	0,656 6,400 <b>&lt;0,001</b>
<b>3. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,607 5,623 <b>&lt;0,001</b>	0,647 6,250 <b>&lt;0,001</b>	0,630 5,962 <b>&lt;0,001</b>	0,699 7,297 <b>&lt;0,001</b>	0,662 6,499 <b>&lt;0,001</b>	0,640 6,131 <b>&lt;0,001</b>

Slika 27. na sljedećoj stranici grafički prikazuje korelacije vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima standardnoga invazivnog TBUT-a u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (Skupina 1). Premda su utvrđene korelacije u svim mjerenjima bile statistički vrlo značajne, najizraženija pozitivna povezanost utvrđena je između vrijednosti trećeg mjerenja NIBUT-a desnog oka i vrijednosti trećeg mjerenja TBUT-a desnog oka.





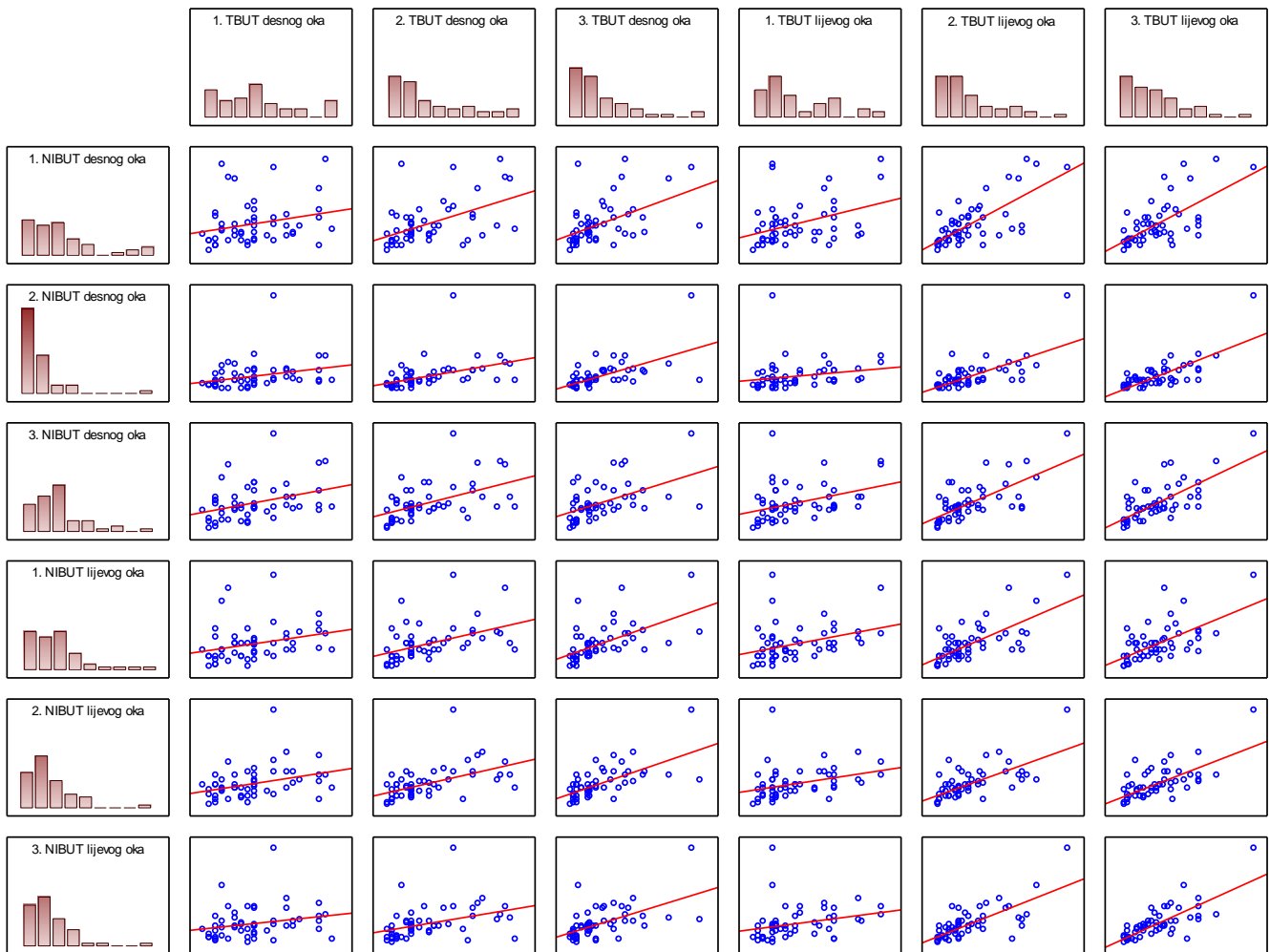
**Slika 27.** Korelacije vrijednosti triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka s vrijednostima triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

Tablica 14. prikazuje korelacije vrijednosti NIBUT-a izmjerene ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza s vrijednostima standardnoga invazivnog TBUT-a u ispitanika kontrolne skupine (Skupina 2). Vrijednosti svih triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka bile su statistički značajno pozitivno povezane s vrijednostima svih triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka. Utvrđene korelacije u većini slučajeva imale su veliku statističku značajnost ( $p < 0,001$ ), osim u slučajevima između vrijednosti prvog mjerenja TBUT-a desnog oka i vrijednosti svih mjerenja NIBUT-a oba oka, te vrijednosti prvog mjerenja TBUT-a lijevog oka i vrijednosti svih triju mjerenja NIBUT-a desnog oka.

**Tablica 14.** Korelacije vrijednosti triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka s vrijednostima triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>1. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>2. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>3. TBUT desnog oka (sekunde)</b>	<b>1. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>	<b>2. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>	<b>3. TBUT lijevog oka (sekunde)</b>
<b>1. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,308 2,292 <b>0,026</b>	0,507 4,163 <b>&lt;0,001</b>	0,571 4,921 <b>&lt;0,001</b>	0,365 2,773 <b>0,007</b>	0,614 5,504 <b>&lt;0,001</b>	0,588 5,144 <b>&lt;0,001</b>
<b>2. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,420 3,273 <b>0,002</b>	0,660 6,227 <b>&lt;0,001</b>	0,666 6,323 <b>&lt;0,001</b>	0,395 3,047 <b>0,004</b>	0,625 5,668 <b>&lt;0,001</b>	0,641 5,917 <b>&lt;0,001</b>
<b>3. NIBUT desnog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,387 2,970 <b>0,005</b>	0,534 4,473 <b>&lt;0,001</b>	0,500 4,091 <b>&lt;0,001</b>	0,412 3,206 <b>0,002</b>	0,617 5,544 <b>&lt;0,001</b>	0,626 5,688 <b>&lt;0,001</b>
<b>1. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,414 3,221 <b>0,002</b>	0,552 4,692 <b>&lt;0,001</b>	0,669 6,369 <b>&lt;0,001</b>	0,435 3,318 <b>&lt;0,001</b>	0,642 5,927 <b>&lt;0,001</b>	0,589 5,159 <b>&lt;0,001</b>
<b>2.. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,427 3,354 <b>0,002</b>	0,607 5,405 <b>&lt;0,001</b>	0,686 6,684 <b>&lt;0,001</b>	0,470 3,770 <b>&lt;0,001</b>	0,661 6,241 <b>&lt;0,001</b>	0,619 5,586 <b>&lt;0,001</b>
<b>3. NIBUT lijevog oka (sekunde)</b>	Spearman R t(N-2) p	0,323 2,416 <b>0,019</b>	0,536 4,494 <b>&lt;0,001</b>	0,615 5,523 <b>&lt;0,001</b>	0,481 3,879 <b>&lt;0,001</b>	0,682 6,602 <b>&lt;0,001</b>	0,727 7,521 <b>&lt;0,001</b>

Slika 28. na sljedećoj stranici grafički prikazuje korelacije vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima standardnoga invazivnog TBUT-a u ispitanika kontrolne skupine (Skupina 2). Premda su utvrđene korelacije u svim mjerenjima bile statistički značajne, najizraženija pozitivna povezanost utvrđena je između vrijednosti trećeg mjerenja TBUT-a desnog oka i vrijednosti svih mjerenja NIBUT-a oba oka, te vrijednosti drugoga i trećeg mjerenja TBUT-a lijevog oka i vrijednosti svih triju mjerenja NIBUT-a oba oka.



**Slika 28.** Korelacije vrijednosti triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka s vrijednostima triju mjerenja TBUT-a desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

Usporedbom Tablica 13. i 14., te Slika 27. i 28. vidljivo je da je u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka utvrđena veća pozitivna povezanost između vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a oba oka u svim mjerenjima nego u ispitanika kontrolne skupine.

## 5.5. KORELACIJE VRIJEDNOSTI NIBUT-a S DRUGIM KLINIČKIM ZNAKOVIMA BOLESTI SUHOG OKA

Budući da nije bilo statistički značajne razlike unutar ispitivanih skupina između triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka (Tablica 7.), u daljnjoj statističkoj analizi povezanosti NIBUT-a s drugim kliničkim znakovima bolesti suhog oka korištene su srednje vrijednosti (aritmetička sredina  $\pm$  SD i medijan, raspon) triju mjerenja NIBUT-a desnoga i lijevog oka (Tablica 15.). Rezultati statističke značajnosti između skupina, odnosno odsutnosti značajnosti unutar skupina iz Tablice 15. odgovaraju onima ranije prikazanima u Tablici 7.

**Tablica 15.** Srednje vrijednosti NIBUT-a desnoga i NIBUT-a lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
NIBUT desnog oka	9,36 $\pm$ 6,85 (7, 3-35)	21,33 $\pm$ 13,99 (17,5, 4-62)	5,939	<b>&lt;0,001</b>
NIBUT lijevog oka	8,96 $\pm$ 6,32 (7, 2-30)	20,88 $\pm$ 13,37 (17,5, 3-70)	5,442	<b>&lt;0,001</b>
<b>Z<sup>b</sup></b>	3,387	3,043		
<b>p<sup>b</sup></b>	0,061	0,096		

$\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup>Mann-Whitney test <sup>b</sup>Wilcoxon test

### 5.5.1. KORELACIJE NIBUT-a S NAČINOM PUCANJA SUZNOG FILMA

Nije bilo statistički značajne razlike u načinu pucanja suznog filma (u obliku pukotina ili granularno) na površini desnoga i lijevog oka između ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i ispitanika kontrolne skupine ( $p = 0,660$ ;  $p = 0,789$ ), kao ni između desnoga i lijevog oka unutar skupina ispitanika ( $p = 1,000$ ;  $p = 0,401$ ). (Tablica 16.)

**Tablica 16.** Način pucanja suznog filma desnoga i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Chi-<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
Način pucanja suznog filma desnog oka (1/2)*	34/22 (60,7/39,3)	29/23 (55,8//44,2)	0,271 <sup>a</sup>	0,602 <sup>a</sup>
Način pucanja suznog filma lijevog oka (1/2)*	34/22 (60,7/39,3)	30/22 (57,7//42,3)	0,102 <sup>a</sup>	0,749 <sup>a</sup>
<b>Chi-<sup>b</sup></b>	0,000	0,706		
<b>p<sup>b</sup></b>	1,000	0,401		

\* 1 – u obliku pukotina, 2 – granularno N (%) <sup>a</sup> Hi-kvadrat test df = 1 <sup>b</sup> McNemar test df = 0 df = 1

Tablice 17. i 18. prikazuju korelacije vrijednosti NIBUT-a s načinom pucanja suznog filma (u obliku pukotina ili granularno) desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i ispitanika kontrolne skupine. U objema skupinama utvrđene su statistički značajne pozitivne korelacije NIBUT-a i načina pucanja suznog filma ( $p < 0,001$ ), što ukazuje na veću učestalost granularnog načina pucanja suznog filma u ispitanika s dužim NIBUT-om.

**Tablica 17.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s načinom pucanja suznog filma desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Način pucanja suznog filma desnog oka (1/2)*</b>	Spearman R	0,461	0,515
	t(N-2)	3,822	4,416
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Način pucanja suznog filma lijevog oka (1/2)*</b>	Spearman R	0,461	0,515
	t(N-2)	3,822	4,416
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

\* 1 – u obliku pukotina, 2 – granularno

**Tablica 18.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s načinom pucanja suznog filma desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Način pucanja suznog filma desnog oka (1/2)*</b>	Spearman R	0,522	0,558
	t(N-2)	4,327	4,754
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Način pucanja suznog filma lijevog oka (1/2)*</b>	Spearman R	0,468	0,548
	t(N-2)	3,754	4,631
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

\* 1 – u obliku pukotina, 2 – granularno

### 5.5.2. KORELACIJE NIBUT-a S DEBLJINOM LIPIDNOG SLOJA SUZA

Ispitanici sa simptomima bolesti suhog oka imali su statistički značajno tanji lipidni sloj suza (engl. LLT) na površini desnoga i lijevog oka nego ispitanici kontrolne skupine ( $p = 0,011$ ;  $p = 0,005$ ). Wilcoxonovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika između vrijednosti LLT-a desnoga i lijevog oka unutar ispitivanih skupina ( $p = 0,179$ ;  $p = 1,000$ ).

**Tablica 19.** Debljina lipidnog sloja suza desnoga i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
LLT desnog oka	2,88±1,18 (3, 1-5)	3,40±0,75 (3, 2-5)	2,555	<b>0,011</b>
LLT lijevog oka	2,84±1,17 (3, 1-5)	3,40±0,72 (3, 2-5)	2,807	<b>0,005</b>
<b>Z<sup>b</sup></b>	1,342	0,000		
<b>p<sup>b</sup></b>	0,179	1,000		

$\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Wilcoxon test

Vrijednosti NIBUT-a oba oka bile su statistički značajno pozitivno povezane s LLT-om desnoga i lijevog oka u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (Tablica 20.), dok u kontrolnoj skupini statistički značajne povezanosti nije bilo (Tablica 21.).

**Tablica 20.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s debljinom lipidnog sloja suza desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>LLT desnog oka</b>	Spearman R	0,413	0,392
	t(N-2)	3,327	3,131
	p	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>
<b>LLT lijevog oka</b>	Spearman R	0,420	0,414
	t(N-2)	3,402	3,343
	p	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>

**Tablica 21.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s debljinom lipidnog sloja suza desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>LLT desnog oka</b>	Spearman R	0,109	0,132
	t(N-2)	0,783	0,938
	p	0,438	0,353
<b>LLT lijevog oka</b>	Spearman R	0,043	0,106
	t(N-2)	0,302	0,752
	p	0,764	0,455

### 5.5.3. KORELACIJE NIBUT-a S HIPEREMIJOM SPOJNICE

Hiperemija spojnice (engl. CCRLU) oba oka bila je statistički značajno izraženija u ispitanika sa simptomima suhog oka nego u ispitanika kontrolne skupine ( $p = 0,047$ ), a razlike u hiperemiji desnoga i lijevog oka unutar ispitivanih skupina nije bilo ( $p = 1,000$ ) (Tablica 22.).

**Tablica 22.** Hiperemija spojnice desnoga i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
CCRLU desnog oka	0,35±0,48 (0, 0-1)	0,13±0,34 (0, 0-1)	-1,989	<b>0,047</b>
CCRLU lijevog oka	0,35±0,48 (0, 0-1)	0,13±0,34 (0, 0-1)	-1,989	<b>0,047</b>
<b>Z<sup>b</sup></b>	0,000	0,000		
<b>p<sup>b</sup></b>	1,000	1,000		

$\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Wilcoxon test

Vrijednosti NIBUT-a oba oka bile su statistički značajno negativno povezane s hiperemijom spojnice oba oka u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (Tablica 23.) dok u kontrolnoj skupini statistički značajne povezanosti nije bilo (Tablica 24.).

**Tablica 23.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s hiperemijom spojnice desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>CCRLU desnog oka</b>	Spearman R	-0,397	-0,338
	t(N-2)	-3,180	-2,643
	p	<b>0,002</b>	<b>0,011</b>
<b>CCRLU lijevog oka</b>	Spearman R	-0,397	-0,338
	t(N-2)	-3,180	-2,643
	p	<b>0,002</b>	<b>0,011</b>



**Tablica 24.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s hiperemijom spojnice desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>CCRLU desnog oka</b>	Spearman R	-0,103	-0,112
	t(N-2)	-0,735	-0,818
	p	0,466	0,417
<b>CCRLU lijevog oka</b>	Spearman R	-0,103	-0,112
	t(N-2)	-0,735	-0,818
	p	0,466	0,417

#### 5.5.4. KORELACIJE NIBUT-a S NABORIMA SPOJNICE PARALELNIMA S RUBOM VJEĐE

Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (engl. LIPCOF) oba oka bili su statistički značajno izraženiji u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka nego u ispitanika kontrolne skupine ( $p < 0,001$ ), a razlike u naborima desnoga i lijevog oka unutar ispitivanih skupina nije bilo ( $p = 1,000$ ) (Tablica 25).

**Tablica 25.** Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe desnoga i lijevog oka u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Chi<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
LIPCOF desnog oka (0/1/2)*	8/36/12 (14,3/64,3/21,4)	25/26/1 (48,1/50,0/1,9)	19,557	<b>&lt;0,001</b>
LIPCOF lijevog oka (0/1/2)*	8/36/12 (14,3/64,3/21,4)	25/26/1 (48,1/50,0/1,9)	19,557	<b>&lt;0,001</b>
<b>Chi<sup>b</sup></b>	0,000	0,000		
<b>p<sup>b</sup></b>	1,000	1,000		

\* 0 – nema nabora: ne radi se o suhom oku, 1 – jedan nabor ispod razine normalnog suznog meniska: blago suho oko, 2 – više nabora do razine normalnoga suznog meniska: umjereno suho oko N (%) <sup>a</sup>Hi-kvadrat test df = 2 <sup>b</sup>McNemar test df = 0

Vrijednosti NIBUT-a oba oka bile su statistički značajno negativno povezane s vrijednostima LIPCOF-a oba oka u skupini ispitanika sa simptomima suhog oka (Tablica 26.), dok u kontrolnoj skupini statistički značajne povezanosti nije bilo (Tablica 27.).

**Tablica 26.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s naborima spojnice desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>LIPCOF desnog oka</b>	Spearman R	-0,313	-0,336
	t(N-2)	-2,420	-2,624
	p	<b>0,019</b>	<b>0,011</b>
<b>LIPCOF lijevog oka</b>	Spearman R	-0,313	-0,336
	t(N-2)	-2,420	-2,624
	p	<b>0,019</b>	<b>0,011</b>

**Tablica 27.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s naborima spojnice desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>LIPCOF desnog oka</b>	Spearman R	-0,202	-0,138
	t(N-2)	-1,458	-0,988
	p	0,151	0,327
<b>LIPCOF lijevog oka</b>	Spearman R	-0,202	-0,138
	t(N-2)	-1,458	-0,988
	p	0,151	0,327

### 5.5.5. KORELACIJE NIBUT-a S BOJENJEM ROŽNICE FLUORESCEINOM

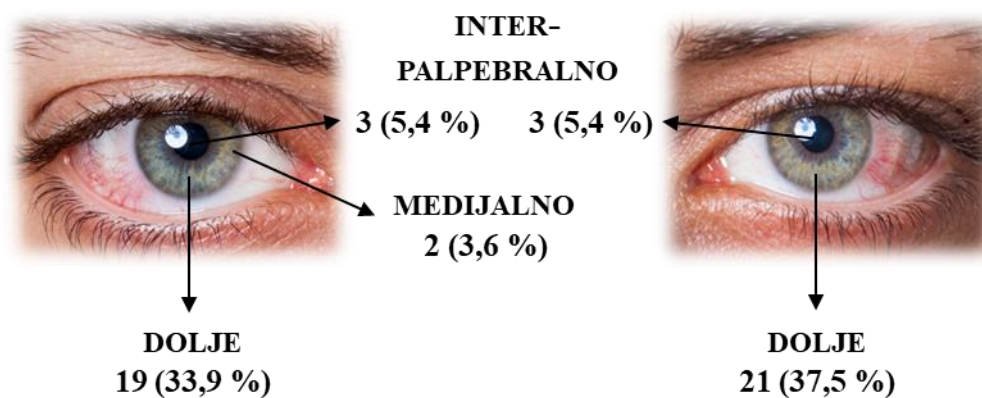
Pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom oba oka bio je statistički značajno češći u ispitanika sa simptomima suhog oka nego u ispitanika kontrolne skupine ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,004$ ), a razlike u nalazu bojenja rožnice unutar ispitivanih skupina nije bilo (Tablica 28.).

**Tablica 28.** Bojenje rožnice desnoga i lijevog oka fluoresceinom u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

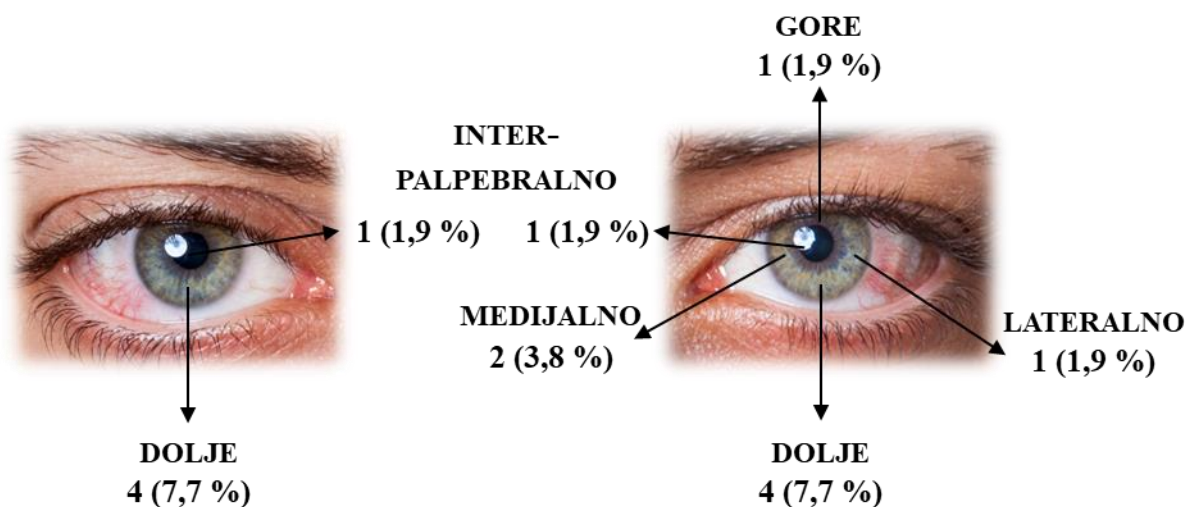
	Skupina 1 (N=56)	Skupina 2 (N=52)	Chi- <sup>a</sup>	p <sup>a</sup>
Bojenje rožnice (neg./poz.) desnog oka fluoresceinom	32/24 (57,1/42,9)	47/5 (90,4/9,6)	15,169 <sup>a</sup>	<b>0,001<sup>a</sup></b>
Bojenje rožnice (neg./poz.) lijevog oka fluoresceinom	32/24 (57,1/42,9)	43/9 (82,7/17,3)	8,295 <sup>a</sup>	<b>0,004<sup>a</sup></b>
Chi- <sup>b</sup>	0,000	1,923		
p <sup>b</sup>	1,000	0,073		

N (%) <sup>a</sup>Hi-kvadrat test df = 1 <sup>b</sup>McNemar test df = 0 df = 1

U objema skupinama ispitanika rožnica desnoga i lijevog oka najčešće je bila fluorescein pozitivna u donjem dijelu, a rjeđe u ostalim dijelovima (Slike 29. i 30.).



**Slika 29.** Flourescein pozitivni dijelovi rožnice desnoga i lijevog oka u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (N(%)).



**Slika 30.** Flourescein pozitivni dijelovi rožnice desnoga i lijevog oka u ispitanika kontrolne skupine (N(%)).

Vrijednosti NIBUT-a oba oka bile su statistički značajno negativno povezane s učestalošću pozitivnog nalaza bojenja rožnice fluoresceinom oba oka u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka (Tablica 29.), dok u kontrolnoj skupini statistički značajne povezanosti nije bilo (Tablica 30.).

**Tablica 29.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s bojenjem rožnice desnoga i lijevog oka fluoresceinom u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Bojenje rožnice (neg./poz.) desnog oka fluoresceinom</b>	Spearman R	-0,252	-0,220
	t(N-2)	-2,678	-2,323
	p	<b>0,009</b>	<b>0,022</b>
<b>Bojenje rožnice (neg./poz.) lijevog oka fluoresceinom</b>	Spearman R	-0,226	-0,218
	t(N-2)	-2,389	-2,192
	p	<b>0,019</b>	<b>0,032</b>

**Tablica 30.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s bojenjem rožnice desnoga i lijevog oka fluoresceinom u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Bojenje rožnice (neg./poz.) desnog oka fluoresceinom</b>	Spearman R	-0,098	-0,031
	t(N-2)	-0,722	-0,231
	p	0,473	0,818
<b>Bojenje rožnice (neg./poz.) lijevog oka fluoresceinom</b>	Spearman R	-0,169	-0,117
	t(N-2)	-1,266	-0,864
	p	0,211	0,392

## 5.6. KORELACIJE NIBUT-a SA SIMPTOMIMA BOLESTI SUHOG OKA I TIPOM KOŽE

### 5.6.1. KORELACIJE NIBUT-a SA SIMPTOMIMA BOLESTI SUHOG OKA

Ispitanici kontrolne skupine nisu imali simptome bolesti suhog oka i njihov ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima bio je 0,00 pa testiranje korelacije NIBUT-a s tim simptomima u ovoj skupini nije provedeno. U skupini ispitanika sa simptomima suhog oka utvrđena je statistički značajna negativna korelacija NIBUT-a oba oka s ukupnim zbrojem bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima (Tablica 31.).

**Tablica 31.** Korelacije NIBUT-a desnoga i lijevog oka sa zbrojem bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima u ispitanika sa simptomima suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima</b>	Spearman R	-0,449	-0,425
	t(N-2)	-3,691	-3,453
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>

## 5.6.2. KORELACIJE NIBUT-a S TIPOM KOŽE

Tablica 32. prikazuje razlike u tipu kože (suha/masna) čela i obraza u ispitanika podijeljenih u skupine prema simptomima bolesti suhog oka. Ispitanici s tim simptomima imali su značajno sušu kožu čela i obraza nego ispitanici kontrolne skupine ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,007$ ). Wilcoxonovim testom u ispitanika sa simptomima nije utvrđena statistički značajna razlika između tipa kože čela i obraza ( $p = 0,272$ ), no koža ispitanika kontrolne skupine bila je statistički značajno masnija na čelu nego na obrazu ( $p = 0,013$ ).

**Tablica 32.** Tip kože (suha/masna) čela i obraza u ispitanika podijeljenih u dvije skupine prema prisutnosti/odsutnosti simptoma bolesti suhog oka.

	<b>Skupina 1</b> (N=56)	<b>Skupina 2</b> (N=52)	<b>Z<sup>a</sup></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
Tip kože čela (0-5)*	2,59±1,09 (2,5, 1-5)	3,33±0,83 (3,5, 1-5)	-3,465	<b>&lt;0,001</b>
Tip kože obraza (0-5)*	2,50±1,06 (2, 1-5)	3,06±0,89 (3, 1-5)	-2,665	<b>0,007</b>
<b>Z<sup>b</sup></b>	1,098	2,488		
<b>p<sup>b</sup></b>	0,272	<b>0,013</b>		

\*Tip kože čela i obraza: 1 – suha koža, 5 – masna koža  $\bar{x} \pm SD$  (Med, Min-Max) <sup>a</sup> Mann-Whitney test <sup>b</sup> Wilcoxon test

Vrijednosti NIBUT-a oba oka bile su statistički značajno pozitivno povezane s tipom kože (suha koža) čela i obraza u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka. Ovdje je potrebno istaknuti da je statistički značajnija povezanost utvrđena između vrijednosti NIBUT-a i tipa kože čela nego kože obraza. (Tablica 33.)

**Tablica 33.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s tipom kože (suha/masna) čela i obraza u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Tip kože čela (0 – 5)*</b>	Spearman R	0,338	0,315
	t(N-2)	3,698	3,417
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tip kože obraza (0 – 5)*</b>	Spearman R	0,276	0,273
	t(N-2)	2,954	2,084
	p	<b>0,004</b>	<b>0,042</b>

\*Tip kože čela i obraza: 1 – suha koža, 5 – masna koža

U kontrolnoj skupini nije bilo statistički značajne povezanosti između vrijednosti NIBUT-a oba oka i tipa kože čela i obraza. (Tablica 34.)

**Tablica 34.** Korelacije vrijednosti NIBUT-a desnoga i lijevog oka s tipom kože (suha/masna) čela i obraza u ispitanika kontrolne skupine.

		<b>NIBUT desnog oka</b> (sekunde)	<b>NIBUT lijevog oka</b> (sekunde)
<b>Tip kože čela (0 – 5)*</b>	Spearman R	0,222	0,194
	t(N-2)	1,609	1,397
	p	0,114	0,168
<b>Tip kože obraza (0 – 5)*</b>	Spearman R	0,185	0,099
	t(N-2)	1,938	0,708
	p	0,055	0,482

\*Tip kože čela i obraza: 1 – suha koža, 5 – masna koža

## 5.7. UNIVARIJANTNA I MULTIPLA LOGISTIČKA REGRESIJA

Da bi se procijenili rizici prisutnosti suhog oka povezani uz pojedine varijable, podatci su analizirani logističkom regresijom. Rezultati univarijantne i multiple logističke regresije za dihotomiziranu varijablu suho oko prikazani su u Tablicama 35. – 38.

**Tablica 35.** Rizik prisutnosti suhog oka u ovisnosti o demografskim obilježjima ispitanika.

	<b>OR (95 %CI)</b>	<b>p</b>	<b>AOR (95 %CI)*</b>	<b>p*</b>
Životna dob (god.)	1.03 (1,00 – 1.05)	<b>0.027</b>	/	/
Spol (žene)	0,47 (0,20 – 1,11)	0,086	1,37 (1,15-1,93)	<b>0,034</b>

\* OR standardiziran za dob

Logistička je regresija pokazala da je životna dob glavni neovisni prediktor suhog oka (OR=1,03, 95 % CI 1,00 – 1,05, p=0,027). Žene su imale veći rizik za prisutnost suhog oka nego muškarci, ali samo nakon standardizacije rezultata za dob (AOR=37, 95 % CI 1,15-1,93, p=0,034). (Tablica 35.)

Kraće vrijednosti NIBUT-a značajnije su bile povezane s povećanim rizikom prisutnosti suhog oka (OR=0,86, 95 % CI 0,81-0,92, p<0,001) nego vrijednosti TBUT-a, čak i nakon standardizacije rezultata za dob (AOR=0,87, 95 % CI 0,82-0,93, p<0,001). (Tablica 36.)

**Tablica 36.** Rizik prisutnosti suhog oka u ovisnosti o srednjim vrijednostima NIBUT-a i TBUT-a desnoga i lijevog oka.

	<b>OR (95 %CI)</b>	<b>p</b>	<b>AOR (95 %CI)*</b>	<b>p*</b>
NIBUT desnog oka	0,86 (0,81 – 0,92)	<b>&lt;0,001</b>	0,87 (0,82 – 0,93)	<b>&lt;0,001</b>
NIBUT lijevog oka	0,86 (0,81 – 0,92)	<b>&lt;0,001</b>	0,87 (0,82 – 0,93)	<b>&lt;0,001</b>
TBUT desnog oka	0,86 (0,79 – 0,94)	<b>0,001</b>	0,88 (0,80 – 0,97)	<b>0,008</b>
TBUT lijevog oka	0,88 (0,82 – 0,94)	<b>0,001</b>	0,89 (0,83 – 0,97)	<b>0,005</b>

\* OR standardiziran za dob i spol



Način pucanja suznog filma nije značajnije utjecao na rizik prisutnosti suhog oka čak ni nakon standardizacije rezultata za dob. No, povećanje rizika prisutnosti suhog oka bilo je značajno povezano s tanjim lipidnim slojem suza na površini oka, izraženijom hiperemijom spojnice i izraženijim naborima spojnice te jače pozitivnim bojenjem rožnice fluoresceinom oba oka, a rezultati su perzistirali i nakon standardizacije za dob (Tablica 37.).

**Tablica 37.** Rizik prisutnosti suhog oka u ovisnosti o drugim kliničkim znakovima suhog oka.

	<b>OR (95 % CI)</b>	<b>p</b>	<b>AOR (95 % CI)*</b>	<b>p*</b>
Način pucanja suznog filma desnog oka (1/2)†	1,23 (0,57 – 2,64)	0,603	1,09 (0,48 – 2,47)	0,842
Način pucanja suznog filma lijevog oka (1/2)†	1,13 (0,53 – 2,44)	0,749	1,06 (0,47 – 2,39)	0,894
LLT desnog oka	0,58 (0,39 – 0,87)	<b>0,009</b>	0,58 (0,38 – 0,89)	<b>0,013</b>
LLT lijevog oka	0,55 (0,36 – 0,84)	<b>0,005</b>	0,55 (0,35 – 0,85)	<b>0,008</b>
CCRLU desnog oka	3,57 (1,36 – 9,38)	<b>0,010</b>	4,21 (1,41 – 12,52)	<b>0,010</b>
CCRLU lijevog oka	3,57 (1,36 – 9,38)	<b>0,010</b>	4,21 (1,41 – 12,52)	<b>0,010</b>
LIPCOF desnog oka (0/1/2)††	5,07 (2,31 – 11,12)	<b>&lt;0,001</b>	4,49 (1,88 – 10,78)	<b>0,001</b>
LIPCOF lijevog oka (0/1/2)††	5,07 (2,31 – 11,12)	<b>&lt;0,001</b>	4,49 (1,88 – 10,78)	<b>0,001</b>
Bojenje rožnice (neg/poz) desnog oka fluoresceinom	4,04 (1,66 – 9,84)	<b>0,002</b>	4,43 (1,74 – 11,27)	<b>0,002</b>
Bojenje rožnice (neg/poz) lijevog oka fluoresceinom	4,14 (1,69 – 9,94)	<b>0,012</b>	4,23 (1,86 – 10,01)	<b>0,012</b>

\* OR standardiziran za dob i spol

† 1 - u obliku pukotina, 2 – granularno; †† 0 - nema nabora: ne radi se o suhom oku, 1 – jedan nabor ispod razine normalnog suznog meniska: blago suho oko, 2 – više nabora do razine normalnog suznog meniska: umjereno suho oko

Povećan rizik prisutnosti suhog oka statistički je bio značajno povezan sa suhim tipom kože čela i obraza. No, suha koža čela značajnije je povećavala rizik prisutnosti suhog oka (OR=0,47, 95 % CI 0,31-0,71, p<0,001) nego suha koža obraza, a rezultati su perzistirali čak i nakon standardizacije za dob (AOR=0,53, 95 % CI 0,34-0,83, p<0,001) (Tablica 38.).

**Tablica 38.** Rizik prisutnosti suhog oka u ovisnosti o tipu kože čela i obraza.

	<b>OR (95 %CI)</b>	<b>p</b>	<b>AOR (95 %CI)*</b>	<b>p*</b>
Tip kože čela (0-5)†	0,47 (0,31-0,71)	<b>&lt;0,001</b>	0,53 (0,34-0,83)	<b>0,005</b>
Tip kože obraza (0-5)†	0,56 (0,38-0,85)	<b>0,006</b>	0,62 (0,41-0,94)	<b>0,024</b>

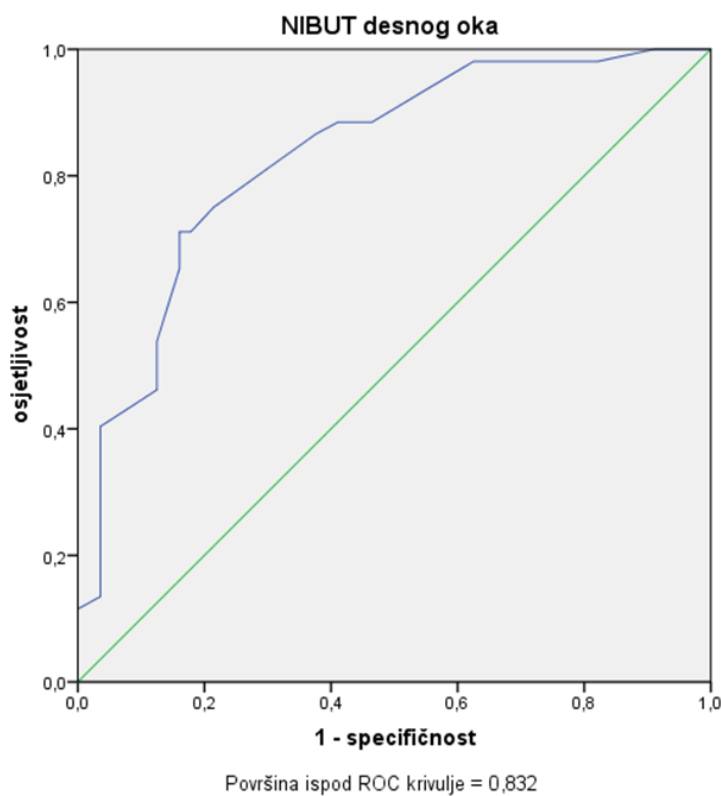
\* OR standardiziran za dob i spol

† Tip kože čela i obraza: 1 – suha koža, 5 – masna koža

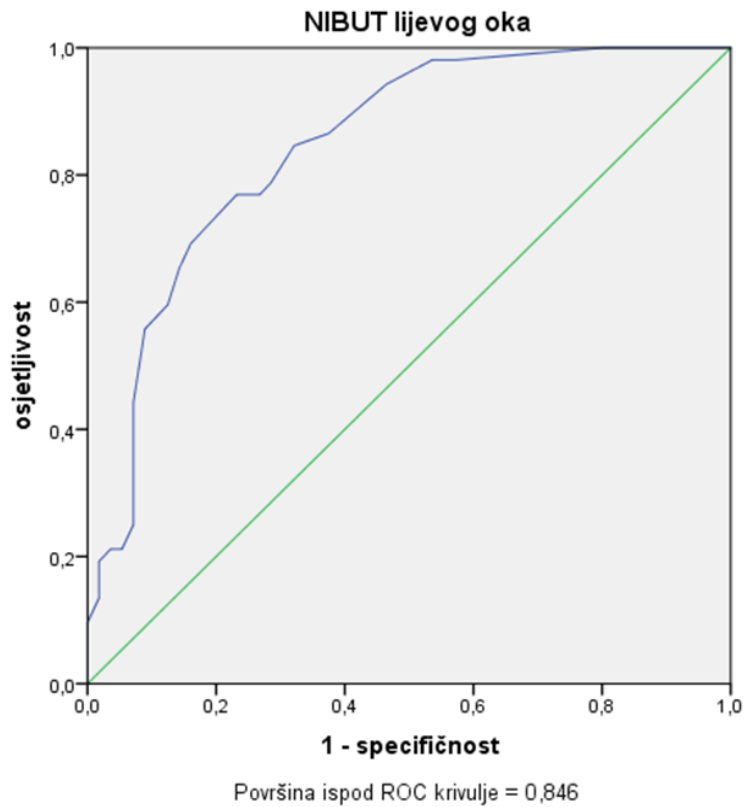
## 5.8. DIJAGNOSTIČKA TOČNOST NIBUT-a

### 5.8.1. ROC ANALIZA

Slike 31. i 32. prikazuju ROC krivulje (engl. *Receiver Operator Characteristic*, ROC) NIBUT-a desnoga i lijevog oka.



**Slika 31.** ROC krivulja NIBUT-a desnog oka.



**Slika 32.** ROC krivulja NIBUT-a lijevog oka

Relativno strmo penjanje i prolazak krivulje blizu gornjega lijevog ugla te značajno velika površina ispod ROC krivulje (engl. *Area Under the Curve*, AUC) (AUC desnog oka = 0,832; AUC lijevog oka = 0,846) ukazuju na vrlo dobru dijagnostičku učinkovitost i točnost NIBUT-a. (Slike 31. i 32., Tablica 39.)

**Tablica 39.** Tablični prikaz površine ispod ROC krivulje i 95 % CI (intervala pouzdanosti) NIBUT-a desnoga i NIBUT-a lijevog oka.

	<b>Površina ispod ROC krivulje</b>	<b>Standardna pogreška</b>	<b>95 % CI</b>	<b>p</b>
NIBUT desnog oka	0,832	0,039	0,755-0,908	0,000
NIBUT lijevog oka	0,846	0,037	0,773-0,919	0,000

## 5.8.2. OSJETLJIVOST I SPECIFIČNOST

**Osjetljivost** je sposobnost dijagnostičke pretrage da osobe s određenom bolešću razvrsta kao pozitivne (iznad točno određene granične vrijednosti ili ispod nje). Osjetljivost opisuje vjerojatnost da će neka osoba s ciljanim poremećajem na ispitivanju biti pozitivna. **Specifičnost** je sposobnost dijagnostičke pretrage da osobe bez oboljenja razvrsta kao negativne (iznad granične vrijednosti ili ispod nje, ovisno o pretrazi). Specifičnost opisuje vjerojatnost da će osoba bez ciljanog poremećaja na ispitivanju biti negativna.

$$\text{osjetljivost} = \frac{\text{broj stvarno pozitivnih nalaza (SP)}}{\text{ukupan broj bolesnika (SP+LN)}}$$

$$\text{specifičnost} = \frac{\text{broj stvarno negativnih nalaza (SN)}}{\text{ukupan broj zdravih (SN+LP)}}$$

**Tablica 40.** NIBUT (granična vrijednost  $\leq 10$  sekunda) kao dijagnostička pretraga za dijagnosticiranje bolesti suhog oka: uobičajeni model 2 x 2.

	Kontrola (zdravi)	Suho oko (bolesni)	Ukupno
NIBUT > 10 sekunda	39 (SN)*	12 (LN)*	51 (SN+LN)
NIBUT $\leq 10$ sekunda	13 (LP)*	44 (SP)*	57 (SP+LP)
<b>Ukupno</b>	52 (SN+LP)	56 (SP+LN)	108

\* dijagnostički rezultat: SN – stvarno negativan, LP – lažno pozitivan, LN – lažno negativan, SP – stvarno pozitivan

Ako se NIBUT  $\leq 10$  sekunda koristi kao granična vrijednost kojom se bolesnici razvrstavaju kao pozitivni, osjetljivost NIBUT-a iznosi 78,6 %, a specifičnost 75 % (Tablica 40.). Povećanjem granične vrijednosti NIBUT-a na 12 sekunda, osjetljivost NIBUT-a se povećava na 80,4 %, a specifičnost smanjuje na 71,1 % (Tablica 41.).

**Tablica 41.** NIBUT (granična vrijednost  $\leq 12$  sekunda) kao dijagnostička pretraga za dijagnosticiranje bolesti suhog oka: uobičajeni model 2 x 2.

	Kontrola (zdravi)	Suho oko (bolesni)	Ukupno
NIBUT > 12 sekunda	37 (SN)*	11 (LN)*	48 (SN+LN)
NIBUT $\leq 12$ sekunda	15 (LP)*	45 (SP)*	60 (SP+LP)
<b>Ukupno</b>	52 (SN+LP)	56 (SP+LN)	108

\* dijagnostički rezultat: SN – stvarno negativan, LP – lažno pozitivan, LN – lažno negativan, SP – stvarno pozitivan

Što je veća osjetljivost pretrage, veća je vjerojatnost pozitivnog nalaza kada je prisutna određena bolest, tj. suho oko, i obrnuto – što je veća specifičnost pretrage, veća je vjerojatnost negativnog nalaza kada određena bolest nije prisutna. S povećanjem osjetljivosti pretrage pada njezina specifičnost, i obrnuto, stoga treba biti jako oprezan s postavljanjem graničnih vrijednosti jer preosjetljiva ili prespecifična pretraga mogu dovesti do relativno velikog broja lažno pozitivnih ili negativnih rezultata.

### 5.8.3. PREDIKTIVNE VRIJEDNOSTI

**Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV)** otkriva koliki postotak osoba s pozitivnim nalazom ima neku bolest. **Negativna prediktivna vrijednost (NPV)** otkriva koliki postotak osoba s negativnim rezultatom nema bolest.

$$\text{pozitivna prediktivna vrijednost} = \frac{\text{broj stvarno pozitivnih nalaza (SP)}}{\text{broj svih pozitivnih nalaza (SP+LP)}}$$

$$\text{negativna prediktivna vrijednost} = \frac{\text{broj stvarno negativnih nalaza (SN)}}{\text{broj svih negativnih nalaza (SN+LN)}}$$

Prediktivne vrijednosti su pod utjecajem prevalencije bolesti u testiranoj populaciji; kako prevalencija opada, tako opada i pozitivna prediktivna vrijednost, dok negativna

prediktivna vrijednost raste. No, u ovom je istraživanju bio podjednak broj bolesnih (ispitanici sa simptomima bolesti suhog oka, N=56) i zdravih osoba (ispitanici kontrolne skupine, N=52) pa utjecaj prevalencije na prediktivne vrijednosti možemo zanemariti.

Ako se  $NIBUT \leq 12$  sekunda koristi kao granična vrijednost kojom se bolesnici razvrstavaju kao pozitivni (Tablica 39.), pozitivna prediktivna vrijednost NIBUT-a iznosi 75 %, a negativna prediktivna vrijednost 77 %. PPV od 75 % ukazuje da su ispitanici u ovom istraživanju, koji su se javili u Očnu ambulantu, imali suho oko kao uzrok simptoma u trima od četiriju slučajeva kad im je NIBUT bio  $\leq 12$  sekunda. NPV od 77 % znači da gotovo osam od deset ispitanika, koji su imali negativan nalaz pretrage (tj.  $NIBUT > 12$  sekunda), nisu imali suho oko.

#### 5.8.4. DIJAGNOSTIČKA TOČNOST

**Dijagnostička točnost** je vjerojatnost da će pojedinac biti ispravno razvrstan temeljem neke pretrage, tj. zbroj stvarno pozitivnih i stvarno negativnih podijeljen s ukupnim brojem ispitanih osoba.

$$\text{točnost} = \frac{\text{broj točnih nalaza (SP+SN)}}{\text{ukupan broj } \textit{ispitanika} \text{ (N)}}$$

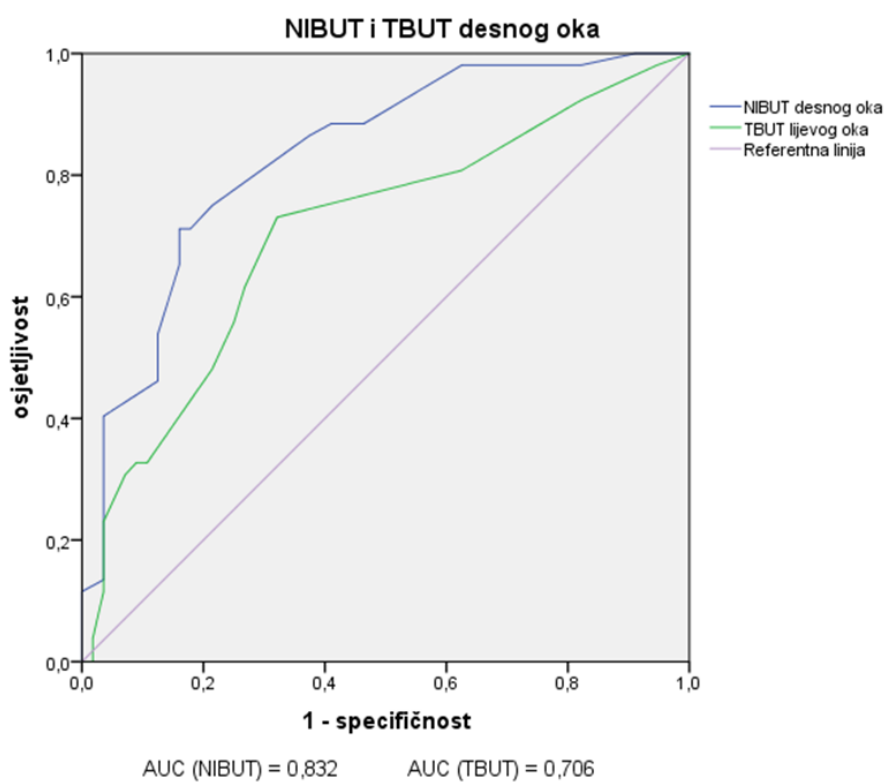
U ovom slučaju s NIBUT-om izračun bi glasilo:  $(45 + 37) / 108 = 0,76$ . Drugim riječima, 76 % ispitanika u ovom je istraživanju bilo odgovarajuće razvrstano u skupine bolesnih ili zdravih s graničnom vrijednošću NIBUT-a od 12 sekunda.

Točnost predstavlja odmjereni prosjek osjetljivosti i specifičnosti, pri čemu se osjetljivost mjeri prevalencijom ishoda u ispitivanoj populaciji, a specifičnost komplementom prevalencije. No, nažalost, točnost se samo u rijetkim slučajevima približava osjetljivosti i specifičnosti, tj. kad su osjetljivost i specifičnost istovjetne ili gotovo istovjetne ili kad se prevalencija bolesti približava 50 %. Unatoč početnoj dopadljivosti točnosti kao jedinstvenoj mjeri valjanosti pretrage, njezina ovisnost o prevalenciji čini je manje vrijednom od pažljivoga i uravnoteženog razmatranja pojedinačnih mjera učinkovitosti i obilježja pretrage.

## 5.9. USPOREDBA DIJAGNOSTIČKE TOČNOSTI NIBUT-a S TOČNOŠĆU TBUT-a

### 5.9.1. ROC ANALIZA

Strmije penjanje i prolazak krivulje bliže gornjemu lijevom uglu, te značajno veća površina ispod ROC krivulje NIBUT-a u usporedbi s istim parametrima TBUT-a desnog oka (AUC: NIBUT = 0,832; AUC: TBUT = 0,706) ukazuje na bolju dijagnostičku učinkovitost i veću točnost NIBUT-a od TBUT-a. (Slika 33., Tablica 42.)

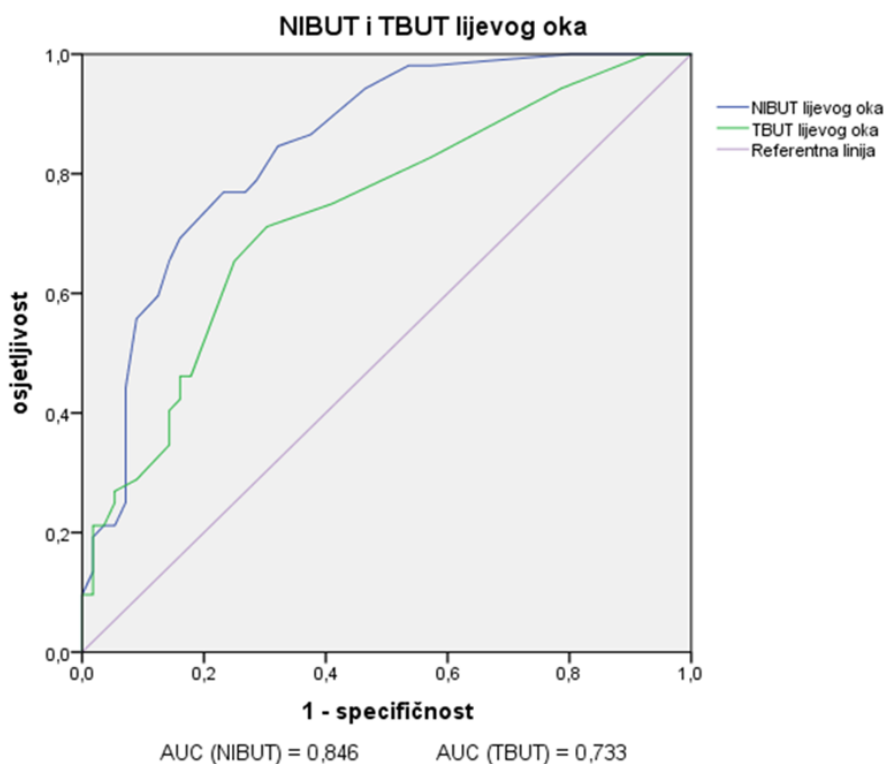


**Slika 33.** ROC krivulje NIBUT-a i TBUT-a desnog oka

**Tablica 42.** Tablični prikaz površine ispod ROC krivulje i 95 % CI (intervala pouzdanosti) NIBUT-a i TBUT-a desnog oka.

	Površina ispod ROC krivulje	Standardna pogreška	95 % CI	p
NIBUT desnog oka	0,832	0,039	0,755-0,908	0,000
TBUT desnog oka	0,706	0,051	0,607-0,806	0,000

Kao i kod desnog oka, strmije penjanje i prolazak krivulje bliže gornjemu lijevom uglu, te značajno veća površina ispod ROC krivulje NIBUT-a u usporedbi s istim parametrima TBUT-a lijevog oka (AUC: NIBUT = 0,832; AUC: TBUT = 0,706), podržavaju bolju dijagnostičku učinkovitost i veću točnost NIBUT-a od TBUT-a. (Slika 34., Tablica 43.)



**Slika 34.** ROC krivulje NIBUT-a i TBUT-a lijevog oka.

**Tablica 43.** Tablični prikaz površine ispod ROC krivulje i 95 % CI (intervala pouzdanosti) NIBUT-a i TBUT-a lijevog oka.

	<b>Površina ispod ROC krivulje</b>	<b>Standardna pogreška</b>	<b>95 % CI</b>	<b>p</b>
NIBUT lijevog oka	0,846	0,037	0,773-0,919	0,000
TBUT lijevog oka	0,733	0,048	0,639-0,827	0,000



## 5.9.2. OSJETLJIVOST I SPECIFIČNOST

**Tablica 44.** TBUT (granična vrijednost  $\leq 10$  sekunda) kao dijagnostička pretraga za dijagnosticiranje bolesti suhog oka: uobičajeni model 2 x 2.

	<b>Kontrola (zdravi)</b>	<b>Suho oko (bolesni)</b>	<b>Ukupno</b>
TBUT $> 10$ sekunda	27 (SN)*	14 (LN)*	41 (SN+LN)
TBUT $\leq 10$ sekunda	25 (LP)*	42 (SP)*	67 (SP+LP)
<b>Ukupno</b>	52 (SN+LP)	56 (SP+LN)	108

\* dijagnostički rezultat: SN – stvarno negativan, LP – lažno pozitivan, LN – lažno negativan, SP – stvarno pozitivan

Ako se TBUT  $\leq 10$  sekunda koristi kao granična vrijednost kojom se bolesnici razvrstavaju kao pozitivni, osjetljivost TBUT-a iznosi 75 %, a specifičnost 52 % (Tablica 44.).

Usporedbom osjetljivosti i specifičnosti dviju dijagnostičkih metoda, TBUT-a s NIBUT-om, vidljivo je da su i osjetljivost i specifičnost NIBUT-a značajno veći od istih TBUT-a pri objema graničnim vrijednostima NIBUT-a (NIBUT  $\leq 10$  sekunda: NIBUT vs. TBUT, osjetljivost 78,6 % vs. 75 %, specifičnost 75 % vs. 52 %; NIBUT  $\leq 12$  sekunda: NIBUT vs. TBUT, osjetljivost 80,4 % vs. 75 %, specifičnost 71,1 % vs. 52 %). (Tablice 40., 41. i 44.)

Prediktivne vrijednosti i dijagnostička točnost TBUT-a nisu analizirane i uspoređivane s istima NIBUT-a zato jer su ranije prikazani rezultati usporedbe ROC analize, osjetljivosti i specifičnosti dokazali bolju dijagnostičku učinkovitost i veću točnost NIBUT-a od TBUT-a.

## 6. RASPRAVA

Temeljna pitanja koja se razmatraju u raspravi i na koja bi rezultati ovog istraživanja trebali dati odgovor su:

1. Može li se korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza na neinvazivan način mjeriti vrijeme pucanja suznog filma, tj. NIBUT?
2. Postoji li, i kakva je povezanost vrijednosti ovako izmjerena NIBUT-a s vrijednostima standardnoga invazivnog testa pucanja suznog filma (engl. TBUT), simptomima i ostalim kliničkim znakovima bolesti suhog oka?
3. Može li ova metoda na praktičan, pouzdan, učinkovit i točan način detektirati bolesnike sa suhim okom?

### 6.1. DEMOGRAFSKA OBILJEŽJA ISPITANIKA

Prosječna životna dob ispitanika u skupini bez simptoma bolesti suhog oka bila je  $53,31 \pm 19,07$  godina, a ista u skupini ispitanika sa simptomima  $60,63 \pm 13,78$  godina. Dob ispitanika sa subjektivnim smetnjama kretala se u rasponu od 29 do 87 godina, a raspon dobi ispitanika bez smetnji bio je od 18 do 84 godine. Iz rezultata je vidljivo da su ispitanici, koji su imali simptome bolesti suhog oka, bili prosječno stariji od ispitanika u kontrolnoj skupini, no ta razlika nije bila statistički značajna iako je korelacija simptoma i dobi bila granično značajna s pozitivnim predznakom. Drugim riječima, nije utvrđena statistički značajna povezanost simptoma bolesti suhog oka i dobi, no postojala je tendencija da se s povećanjem životne dobi povećavaju i subjektivne smetnje vezane uz bolest suhog oka.

Od ukupnog broja ispitanika (N=108), 27,7 % (N=31) je bilo muškaraca, a 71,3 % (N=77) žena. Simptome bolesti suhog oka imalo je 12 (38,71 %) muškaraca, a 19 (61,29 %) nije. Žena koje su se žalile na navedene simptome suhog oka bilo je 44 (57,14 %), a 33 (42,86 %) nisu. Odmah je uočljivo da je veći broj žena nego muškaraca imao smetnje vezane uz bolest suhog oka, no povezanost između ženskog spola i tih simptoma nije bila značajna ( $p=0,212$ ). Također, očigledna je značajna asimetrija raspodjele ispitanika po spolu, u smislu dvostruko većeg broja žena, što se smatra posljedicom puno češćeg posjeta žena oftalmologu.

Zaključno, deskriptivnom analizom u ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna povezanost simptoma bolesti suhog oka sa životnom dobi i spolom ispitanika, iako je postojala tendencija povećanja simptoma u žena starije životne dobi. Nadalje, s obzirom da

se istraživane skupine nisu značajno razlikovale prema demografskim obilježjima, može se reći da je uzorak ispitanika bio homogen i usporediv te se pretpostavlja da je usporedba povezanosti promatranih varijabli u istraživanju dala pouzdan rezultat.

No, kakva je povezanost simptoma bolesti suhog oka sa životnom dobi i spolom u dosad publiciranim radovima? Ukupno 437 velikih epidemioloških studija analizirala je Internacionalna radna skupina za suho oko (TFOS DEWS II), a rezultati metaanalize prikazani su u epidemiološkom izvješću 2017. godine. Ističe se da prevalencija suhog oka raste s dobi, a najizraženija je nakon 50. godine života te da značajnije raste prevalencija znakova suhog oka (10 % u 10 godina) nego simptoma (2 % u 10 godina) (2). To se dijelom objašnjava činjenicom da starenjem očna površina postaje manje osjetljiva na podražaje. Starenjem dolazi do involutivnih promjena suzne žlijezde i Meibomovih žlijezda čime se smanjuje proizvodnja vodene komponente i mijenja kvaliteta meibuma (16, 41). Smanjena proizvodnja meibuma u velikoj je mjeri rezultat pada ukupne količine cirkulirajućih androgena u toj dobi (27). Nadalje, involutivnim promjenama očne površine koja postaje nepravilnija te involutivnim promjenama vjeđa, remeti se pravilno rasprostiranje suznog filma preko površine oka (40). Konačno, promijenjenim odnosom komponenti suznog filma i smanjenim volumenom suza narušava se njegova kvaliteta i stabilnost te se javljaju simptomi i znakovi bolesti suhog oka.

Ukupna se prevalencija simptoma bolesti suhog oka u osoba starijih od 50 godina prema epidemiološkom izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) iz 2007. godine kretala u rasponu od 5 % do 30 % (57). U novom izvješću iz 2017. godine (TFOS DEWS II) ista je iznosila 5 % do 50 %, a prevalencija znakova te bolesti je prema nekim studijama iznosila čak od 5,8 % do 75 % (2). U većini metaanaliza dosljedno je utvrđivana činjenica da su simptomi suhog oka bili zastupljeniji u žena nego u muškaraca, prosječno za 1,33 – 1,74 puta, osim dviju studija u Kini i Mongoliji, koje nisu pokazale razliku u prevalenciji simptoma prema spolu, i jednoj studiji u Singapuru, u kojoj je učestalost simptoma bila 0,6 puta manja u žena (2, 66 – 67, 69 – 70). Jedan od osnovnih nedostataka epidemioloških studija bio je premali broj podataka za populaciju mlađu od 40 godina jer je većina ispitanika u njima bila starija od te dobi. Samo je nekoliko studija istraživalo prevalenciju simptoma u populaciji između 20 i 40 godina (67, 68). One su izvijestile da je prevalencija simptomatskog suhog oka u toj dobi bila blago, ali ne i značajno, niža od one u populaciji starijih od 40 godina, a iznosila je 10 % – 20 %. Dvije studije provedene u Kini objavile su da je prevalencija simptoma suhog oka u populaciji srednjoškolaca bila viša no u starijih, 21 % – 24 % vs. 9,8 % – 19,4 % (159, 160). Ni Schein 1997. godine u svojoj studiji

nije pronašao značajnu povezanost simptoma bolesti suhog oka i životne dobi ispitanika (90). Može se reći da suho oko nije problem isključivo starije populacije, već je u velikoj mjeri prisutno i u osoba mlađe životne dobi, što u budućnosti treba detaljnije istražiti. Na pitanje postoji li povezanost simptoma bolesti suhog oka i dobi, te ako postoji kakva je, još uvijek nema usuglašena odgovora.

Ovo istraživanje obuhvatilo je ispitanike u dobi od 18 do 87 godina. Rezultati deskriptivne analize, slično kao i rezultati Scheinove studije, nisu pokazali statistički značajnu povezanost simptoma i dobi ispitanika iako je postojala granično značajna pozitivna korelacija u smislu tendencije povećanja simptoma s povećanjem životne dobi. Zašto su se mladi i stariji podjednako žalili na simptome bolesti suhog oka kad je patologija njezina nastanka na strani starije populacije? Suho oko u toj dobi posljedica je unutarnjih etiopatogenetskih čimbenika. No, i brojni se vanjski čimbenici povezuju sa značajnim porastom učestalosti smetnji te bolesti u sve mlađoj populaciji, a ne pridaje im se dovoljno pozornosti. Sveprisutno uvođenje računala i ekrana u svakodnevni život i rad, korekcija refraktivnih grešaka kontaktnim lećama i kirurškim refraktivnim zahvatima, sve učestalije alergijske bolesti očne površine izazvane okolišnim zagađenjem i iritansima, najprisutniji su u populaciji mlađoj od 40 godina. Mehanizmi utjecaja tih čimbenika na nastanak suhog oka detaljno su opisani u poglavljima 1.1.2.5. i 1.4.4. Isto tako, osjećaj simptoma subjektivan je i individualan, ovisan o brojnim bio-psiho-socijalnim čimbenicima, kao npr. osjetljivosti očne površine na podražaj, pragu boli, toleranciji simptoma i brojnim drugima. Jesu li mladi ili stariji osjetljiviji na simptome, tko te simptome doživljava kao neugodu i tko ih je voljniji prijaviti? Pitanje je koje ostaje otvoreno za daljnju raspravu.

Jedna od temeljnih karakteristika bolesti suhog oka je ta da se češće javlja u žena nego u muškaraca. Dvije velike istovremeno provedene studije u SAD-u, Women's Health Study i Physicians' Health Studies, na populaciji od 39 000 žena i 25 000 muškaraca istaknule su da je rizik za razvoj bolesti suhog oka u žena bio 70 % veći nego u muškaraca, neovisno o dobi (161, 162). U The Beaver Dam Study, provedenoj na 3703 odraslih žena i muškaraca u Engleskoj, taj je rizik u žena bio veći za 50 % (68). The Beaver Dam Offspring Study provedena na populaciji mlađih ispitanika, također je utvrdila veći rizik za suho oko kod žena nego kod muškaraca, 17,9 % vs. 11,4 % (67). Zanimljivo je da su studije provedene u populaciji starijoj od 65 godina utvrdile da je u toj dobi rizik za razvoj te bolesti podjednak u obaju spolova, što ukazuje da se razlike s obzirom na spol starenjem umanjuju te se nakon 65. godine izjednačavaju (90). Velike studije provedene u Aziji također su utvrdile da je rizik za razvoj suhog oka u žena bio veći za 50 % – 60 % (2). Nasuprot tomu, dvije velike studije The

Singapore Malay Study s 3270 ispitanika i Spanish Salnes Eye Study s 654 ispitanika utvrdile su značajno veću učestalost disfunkcije Meibomovih žlijezda u muškaraca (10, 66). Naime, visoka koncentracija cirkulirajućih androgena rezultira sekrecijom meibuma promijenjena sastava, što u konačnici rezultira hiperevaporativnim suhim okom (poglavlje 1.2.2.).

Odgovor na pitanje, zašto se suho oko češće javlja u žena, velikim dijelom leži u spolnim hormonima: androgenima, estrogenima i progesteronu (27). Uloga je androgena daleko najviše istraživana, a dokazano je da sudjeluju u regulaciji funkcije Meibomovih žlijezda, suznih žlijezda, spojnice, rožnice, prednje očne sobice i ostalih očnih struktura. Oni potiču proizvodnju meibuma i vodene komponente suzne žlijezde. Njihov deficit rezultira razvojem obaju podtipova suhog oka, hiperevaporativnog i hiposekrecijskog. Žene imaju manju koncentraciju androgena u krvi nego muškarci pa ni ne čudi da imaju veći rizik za razvoj bolesti suhog oka. Estrogen i progesteron također imaju važnu funkciju u regulaciji sekrecije žlijezda u proizvodnji suza, no njihova se uloga još istražuje. Razlika među spolovima prisutna je i u regulaciji sekrecije hormona hipotalamo-pituitarne osovine, glukokortikoida, inzulina i hormona štitnjače kao i u građi kromosoma (27). Osim hormonalnih razlika, važne su i brojne druge biološke, kao i psihosocijalne razlike. Pretpostavlja se da žene imaju veću osjetljivost struktura očne površine na podražaj, osjetljivije su na bol, slabije toleriraju smetnje i sklonije su ih prijavljivati. U ovom istraživanju, iako je veći postotak žena imao simptome bolesti suhog oka, deskriptivnom analizom nije utvrđena značajna povezanost simptoma i spola osim tendencija povećanja simptoma u žena starije životne dobi. S obzirom na prisutnu asimetriju raspodjele ispitanika po spolu, autor ovog rada smatra da bi povećanjem broja muškaraca u studiji istaknuta tendencija prerasla u statističku značajnost.

## 6.2. SIMPTOMI BOLESTI SUHOG OKA

Prisutnost ili odsutnost simptoma bolesti suhog oka u ovom je istraživanju bila osnova za podjelu ispitanika u skupine. U skupini ispitanika koji su imali te simptome prosječan zbroj bodova Scheinova upitnika iznosio je  $5,71 \pm 2,74$ , a kretao se u rasponu od 1 do 12, od ukupno 20. Zbroj bodova na dodatnim pitanjima iznosio je  $3,25 \pm 1,31$  te se kretao u rasponu od 1 do 6, od ukupno 8. Prosječan ukupan zbroj bodova u Scheinovu upitniku i na dodatnim pitanjima bio je  $8,86 \pm 3,49$ , u rasponu od 1 do 15. U kontrolnoj skupini ukupan zbroj bodova bio je 0, budući da su se u njoj nalazili ispitanici koji nisu imali subjektivnih smetnji.

Složena patofiziologija bolesti suhog oka još uvijek je predmet intenzivnih rasprava u znanstvenim krugovima. U proteklih 20 godina definicija i kriteriji njezine dijagnostike prošli su brojne preinake, što je detaljnije opisano u Uvodu (poglavlje 1.2.). Ono što je zajedničko gotovo svim trenutno važećim definicijama i smjernicama dijagnostike te bolesti je da su prisutnost i procjena njezinih simptoma na prvome mjestu po važnosti (3 – 5). Prema ranijem izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS) iz 2007. godine, koja je donedavno bila najprihvaćenija, prisutnost simptoma bio je jedini kriterij za dijagnozu bolesti suhog oka (3). U najnovijim smjernicama iz 2017. godine (TFOS DEWS II), kao i u preporukama Azijskog društva za suho oko (ADES) iz 2016. godine, simptomi su i dalje prvi dijagnostički kriterij, no ističe se i važnost objektivnih znakova suhog oka (4, 5). Naime, iako je bolest suhog oka najčešće praćena simptomima, još uvijek postoji određen broj osoba koji ima znakove, ali ne i simptome bolesti. S druge strane, znakove je moguće objektivizirati, a simptome ne. No, koji su to znakovi koji mogu pouzdano detektirati bolest suhog oka? U izvješću Internacionalne radne skupine za suho oko, nakon simptoma po važnosti se nalazi NIBUT. Suprotno tomu, u smjernicama Azijskog društva za suho oko to je TBUT. Procjena ostalih znakova manje se ističe. Nadalje, metaanaliza epidemioloških studija utvrdila je da su rezultati onih koje su evaluirale simptome bili homogeniji od onih koje su istraživale znakove. Nekonzistentnost rezultata istraživanja na znakovima, posljedica je nepostojanja usuglašenih standardiziranih načina provođenja testova i dobro definiranih kriterija dijagnostike (2). Jedan od možda najboljih primjera trenutno je najprihvaćeniji, standardni TBUT. U rutinskom radu ovaj se test izvodi na brojne načine; dok jedni kapaju jednu ili više kapi fluoresceinske otopine u oko, 1-postotne ili 2-postotne, drugi mikropipetiraju, a treći koriste fluoresceinom impregnirane trakice širine od 1 do 5 mm. Nadalje, jedni koriste graničnu vrijednost testa od 10 sekunda, a drugi od 5 sekunda. Posljedično tomu, u literaturi se pronalaze neujednačeni podatci o vrijednostima TBUT-a, i stoga je rezultate takvih studija nemoguće usporediti. Povrh svega, svaki dijagnostički test evaluira samo dio patofiziologije bolesti suhog oka, a neke parametre bolesti nije ni moguće evaluirati trenutno dostupnim testovima. Stoga se nameće pitanje, kojim se to kriterijima služiti za dijagnosticiranje bolesti suhog oka. Jesu li to znakovi ili simptomi? Ako su simptomi, kojim se upitnikom služiti? Ako su znakovi, koji su to znakovi, kojom metodom ih evaluirati te koje kriterije dijagnostike i granične vrijednosti testova koristiti? Vodeći se činjenicom da su simptomi možda ipak najkonzistentniji pokazatelj bolesti suhog oka, autor ovog rada ih je, kao i drugi autori u svojim radovima, odabrao za temeljni kriterij podjele ispitanika u skupine (25, 139, 141). Stoga je, u ovom

istraživanju, kao i u prethodno navedenima, bolest suhog oka definirana prisutnošću njezinih simptoma.

Često osobe koje se žale na izraženije simptome bolesti suhog oka imaju blage ili uopće nemaju znakove suhog oka. Nasuprot tomu, oni koji imaju evidentne znakove, ne navode prisutnost simptoma. U ovom istraživanju veći ukupan zbroj bodova u upitniku nije značio prisutnost bolesti ili težeg oblika bolesti. Ne postoji neka granična vrijednost upitnika koja bi mogla pouzdano detektirati bolest ili težinu bolesti. Stoga su ispitanici podijeljeni na one sa smetnjama i one bez njih. Kako za sada u dijagnostičkim smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS I i II) nema konsenzusa o najprihvaćenijem upitniku jer svaki od njih ima neke prednosti i nedostatke (11, 83 – 88), autor ovog rada odabrao je Scheinov upitnik koji je praktičan i često se koristi u rutinskom radu (89, 90).

### 6.2.1. SIMPTOMI BOLESTI SUHOG OKA I DOB

Kao što je ranije opisano u poglavlju o dobi ispitanika, nije utvrđena značajna povezanost između simptoma bolesti suhog oka i starije životne dobi ( $p=0,063$ ). Postojala je samo blaga tendencija povećanja subjektivnih smetnja s povećanjem ispitanikove dobi. Povezanost tih ispitivanih varijabli u većini epidemioloških studija bila je visoko značajna (2, 57, 90), no nemali broj drugih (25, 67 – 68, 159 – 160), kao i ovo istraživanje, to ne potvrđuje.

### 6.2.2. SIMPTOMI BOLESTI SUHOG OKA I SPOL

Nadalje, rezultati ovog istraživanja nisu utvrdili statistički značajnu povezanost između simptoma bolesti suhog oka i spola. Nešto veći postotak žena nego muškaraca prijavio je subjektivne smetnje, no to nije bilo statistički značajno. Suprotno tomu, u većini epidemioloških studija povezanost simptoma i ženskog spola bila je visoko značajna (67 – 68, 161 – 162), a ženski spol bio je glavni rizični faktor za razvoj bolesti suhog oka (2). Rezultati ovog istraživanja mogu se objasniti prisutnošću značajne asimetrije u veličini uzorka. Autor smatra da bi se povećanjem broja muškaraca u istraživanju utvrdila značajnija povezanost simptoma i ženskog spola.

### 6.3. NEINVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA

Ono što nedostaje u modernoj dijagnostici bolesti suhog oka je pouzdana metoda koja bi prije svega na praktičan način mogla omogućiti mjerenje NIBUT-a. Osnovni cilj ovog istraživanja bio je ispitati mogućnost mjerenja NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza. Usporediti ovako izmjeren NIBUT sa standardnim, općeprihvaćenim testom u dijagnostici bolesti suhog oka, TBUT-om. Usporediti ga sa simptomima i ostalim znakovima bolesti suhog oka te ispitati može li ovako izmjeren NIBUT poslužiti za pouzdanu i praktičnu detekciju bolesnika sa suhim okom u rutinskom radu.

Prilikom provođenja istraživanja velika pozornost posvećena je praktičnosti primjene ove metode. Kao što je ranije opisano u uvodu i metodologiji rada, ručni instrument za procjenu debljine lipidnog sloja suza ručna je lampa veličine 10-ak centimetara. Vrlo je praktična za uporabu, lagana je i stane u džep. Koristi se zajedno s procijepnom svjetiljkom, no nije vezana za istu. Primjenjuje se poput lupe za pregled očne pozadine, standardnoga oftalmološkog instrumenta. Ukupno vrijeme trajanja provođenja NIBUT-a za sva mjerenja na oba oka iznosilo je od pola minute do pet minuta te je u najvećoj mjeri ovisilo o stabilnosti suznog filma pojedinog ispitanika. Što je stabilnost bila bolja, testiranje je dulje trajalo. Kada se usporedilo ukupno vrijeme trajanja provođenja NIBUT-a i TBUT-a, zaključilo se da je ono bilo podjednako dugo za oba testa, ako ne i kraće za NIBUT. Pri provođenju TBUT-a najprije se u desno oko kapnula jedna kap 1-postotne otopine fluoresceina, potom se oko obrisalo blazinicom, a tek onda su se obavljala mjerenja. Isti postupak ponovio se za lijevo oko, a ispitivač je prethodno ustao i kapnuo kap otopine fluoresceina u lijevo oko što je produžilo testiranje. Kod provođenja NIBUT-a, nakon svih obavljenih mjerenja za desno oko, instrument se prebacio u drugu ruku i nastavilo se mjerenje za lijevo oko. Pritom ispitivač nije morao ustati. Nadalje, sama primjena fluoresceinske otopine je nepraktična jer se njezinim kapanjem nehotice oboje ispitanikove vjeđe i trepavice, a nerijetko koja kap završi i na odjeći ispitanika ili ispitivača.

Prije testiranja ispitaniku se objasnio postupak čitavoga provođenja testa. Najvažnije je bilo da oči drži otvorenima u što dužem periodu dok se ručnim instrumentom osvjetljavala površina oka. Većina je ispitanika odmah shvatila što se od njih traži i dobro je surađivala, što je bio kriterij za uključivanje ispitanika u istraživanje. Nekoliko, uglavnom starijih, ispitanika nije shvatilo što se od njih traži, a neki zbog preosjetljivosti na svjetlo nisu bili u mogućnosti održati otvorene oči. Navedeni ispitanici zbog loše suradnje nisu bili uključeni u istraživanje.



Nakon velikog broja provedenih mjerenja NIBUT-a ručnim instrumentom može se zaključiti da se ova metoda pokazala praktičnom, jednostavnom i razumljivom za ispitanike, podjednako je dugo trajala kao i mjerenje invazivnoga TBUT-a te nije značajno produžila trajanje standardnoga oftalmološkog pregleda. Stoga se može smatrati prikladnom za svakodnevni rutinski rad u općim, ali i u subspecijalističkim oftalmološkim ambulancama.

Dobivene prosječne vrijednosti NIBUT-a mjerenoga korištenjem ručnog instrumenta u skupini ispitanika bez simptoma bolesti suhog oka bile su  $21,98 \pm 12,05$  sekunda, a kretale su se u rasponu od 3 do 126 sekunda. Prosječne vrijednosti NIBUT-a u skupini ispitanika sa simptomima iznosile su  $9,77 \pm 5,97$  sekunda, s rasponom od 2 do 37 sekunda.

Spoznavši važnost NIBUT-a u dijagnostici bolesti suhog oka, znanstvena zajednica krenula je u pronalazak pouzdane metode za njegovo mjerenje (poglavlje 1.4.6.5.). No, osim što se u literaturi ističe stanovita heterogenost u načinima tog mjerenja (jedni su koristili metodu keratografije, drugi metodu videokeratoskopije, treći metodu interferometrije, četvrti metodu termografije očne površine te peti funkcionalne testove), još se više naglašava heterogenost u odabiru instrumenata za provođenje tih metoda. Rezultat svega su neujednačene prosječno izmjerene vrijednosti NIBUT-a s velikim intertestnim i interopservacijskim razlikama te njihovim kretanjem u širokom rasponu.

#### ***Vrijednosti NIBUT-a dobivene metodom keratometrije:***

Patel i sur. su u svojem radu 1985. godine mjerili vrijeme stanjivanja suznog filma (engl. *Tear thinning time*; TTT) keratometrijom (40). Prosječne dobivene vrijednosti TTT-a bile su oko 16 sekunda za ispitanike s urednom funkcijom suznog filma, a sedam sekunda za ispitanike sa suhim okom. Usporedbom dobivenih vrijednosti TTT-a i TBUT-a utvrdilo se da je TTT bio kraći (18 sekunda vs. 22,7 sekunda). Farrell i sur. su kod 34 ispitanika sa suhim okom izmjerili prosječne vrijednosti NIBUT-a od  $6,87 \pm 2,97$  sekunda (133). Dok su Little i Bruce kod 17 zdravih mladih ispitanika izmjerili prosječne vrijednosti TTT-a od 15 sekunda, a vrijednosti su se kretale u rasponu od 3 do 57 sekunda (134). U svim trima prethodno navedenim studijama korišten je isti keratometar. Vanley i sur. mjerili su NIBUT tako da su projicirali sliku mrežice na površinu oka (163). Prosječne izmjerene vrijednosti NIBUT-a kod 90 očiju s normalnom funkcijom suznog filma bile su  $18,6 \pm 1,2$  sekunde. U ovom istraživanju, kao i u onom Patela i sur., prosječni NIBUT bio je kraći od TBUT-a, 18,6 sekunda vs. 30,6 sekunda. Mengher i sur. su u svojem radu za mjerenje NIBUT-a koristili pričvršćenu polukružnu plohu na procijepnoj svjetiljci (8, 136). Dobivene vrijednosti NIBUT-a tom metodom kretale su se od 4 do 214 sekunda u kontrolnoj skupini s prosječnom

vrijednošću od 42 sekunde. Vrijednosti NIBUT-a u skupini ispitanika sa suhim okom iznosile su 25 % – 32 % iznosa prosječnih vrijednosti dobivenih u kontrolnoj skupini. Nadalje, Madden i sur. uspoređivali su vrijednosti NIBUT-a izmjerene standardnim keratometrom s vrijednostima izmjerenim korištenjem Mengherove metode (137). Istraživanje je provedeno na 45 ispitanika s urednom funkcijom suznog filma. Dobivene prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerenog keratometrom bile su kraće od onih izmjerenih polukružnom plohom, 35,6 sekunda vs. 44, 7 sekunda.

Zaključno, prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerenog keratometrom su se kod ispitanika s urednim suznim filmom kretale u rasponu od 15 do 45 sekunda, a kod ispitanika sa suhim okom oko 7 sekunda.

### ***Vrijednosti NIBUT-a dobivene metodom videokeratoskopije:***

Kojima i sur. 2004. godine su, u uzorku od 26 ispitanika s urednom funkcijom suznog filma te 27 ispitanika s bolešću suhog oka, mjerili NIBUT korištenjem TSAS-a (143). Prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene tom metodom bile su izrazito kratke te su iznosile  $2,1 \pm 1,3$  sekunde u kontrolnoj skupini i  $1,1 \pm 0,9$  sekunda u skupini ispitanika sa suhim okom (143, 164). Hong i sur. mjerili su NIBUT kornealnim topografom Keratograph (Oculus, Wetzlar, Germany) (144). U studiju je bilo uključeno ukupno 85 ispitanika, 41 s urednim suznim filmom te njih 44 sa suhim okom. Prosječne vrijednosti NIBUT-a u kontrolnoj skupini bile su  $4,3 \pm 0,3$  sekunde, dok su u skupini ispitanika sa suhim okom iste iznosile  $2,0 \pm 0,2$  sekunde. Koh i sur. su 2016. godine mjerili NIBUT kornealnim topografom Keratograph M5 (Oculus, Wetzlar, Germany) na ukupnom broju od 80 ispitanika (145). Prosječne vrijednosti NIBUT-a u skupini od 30 ispitanika s normalnom funkcijom suznog filma iznosile su  $9,7 \pm 6,7$  sekunda te u skupini od 50 ispitanika sa suhim okom  $4,6 \pm 1,3$  sekunde. L. E. Downie je 2013. godine, na 17 ispitanika u kontrolnoj skupini i 27 ispitanika sa suhim okom, mjerio NIBUT kornealnim topografom Medmont E300 (Medmont International Pty Ltd, Nunawading Victoria, Australia) (165). Dobivene prosječne vrijednosti NIBUT-a bile su duže od onih dobivenih u prethodnim studijama, a iznosile su  $19,4 \pm 5,3$  sekunde u kontrolnoj skupini te  $7,9 \pm 4,9$  sekunda u skupini ispitanika sa suhim okom. Nadalje, Gumus i sur. su 2011. godine mjerili NIBUT u skupini od ukupno 75 ispitanika, njih 30 s urednim suznim filmom te 45 sa suhim okom (141). Za mjerenje NIBUT-a koristili su Tomey RT 7000 (Tomey, US) kornealni topograf. Prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene tom metodom iznosile su  $4,9 \pm 1,6$  sekunda u kontrolnoj skupini,  $2,4 \pm 2$  sekunde u skupini ispitanika s blagim suhim okom, te  $0,4 \pm 0,5$  sekunda u skupini s teškim suhim okom.

Zaključno, prosječne vrijednosti NIBUT-a u studijama u kojima je korištena metoda videokeratoskopije za njegovo mjerenje kretale su se od 2,1 do 19,4 sekunde za ispitanike u kontrolnoj skupini te od 0,4 do 7,9 sekunda za one sa suhim okom.

### ***Vrijednosti NIBUT-a dobivene korištenjem Tearscopea:***

Prosječne vrijednosti NIBUT-a u studiji Tongea i sur. izmjerene u populaciji ispitanika s urednim suznim filmom iznosile su 40 – 60 sekunda (166). Nosch i sur. su u studiji provedenoj 2016. godine mjerili NIBUT korištenjem Tearscopea na 42 ispitanika srednje životne dobi s urednim suznim filmom (152). Prosječne vrijednosti tako izmjerenoga NIBUT-a iznosile su 34,55 sekunda, a kretale su se u rasponu od 12,45 do 53,80 sekunda. U novijoj studiji Markoullia i sur., objavljenoj početkom 2018. godine, NIBUT je mjereno dvjema metodama, korištenjem Tearscopea i videokeratoskopije Oculus Keratographom (151). Prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene Tearscopeom bile su nešto duže od onih dobivenih korištenjem Oculus Keratographa,  $15,9 \pm 10,7$  sekunda vs.  $10,9 \pm 3,9$  sekunda. U studiji Nicholasa i sur. prosječne vrijednosti NIBUT-a, u skupini od 40 ispitanika s urednim suznim filmom, bile su značajno kraće od onih dobivenih u studiji Markoullia i sur. te Noscha i sur. ( $11,2 \pm 6,8$  sekunda vs.  $15,9 \pm 10,7$  sekunda te  $11,2 \pm 6,8$  sekundi vs. 34,55 sekunda) (167). U toj studiji prosječne vrijednosti TBUT-a iznosile su 7,6 sekunda te su bile kraće za 3,7 sekunda od vrijednosti NIBUT-a. Best i sur. su 2012. godine na 100 očiju s urednim suznim filmom mjerili NIBUT na dva načina, koristeći Keratograph (Oculus, Wetzlar, Germany) i Tearscope (168). Rezultati studije pokazali su da su prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene Tearscopeom bile za  $12,35 \pm 7,45$  sekunda duže od onih izmjerenih videokeratoskopijom. Više od 63 % očiju s normalnom funkcijom suznog filma imalo je vrijednosti NIBUT-a niže od 5 sekunda. Nadalje, u studiji Gaoa i sur. mjerena je prosječna vrijednost NIBUT-a u 58 ispitanika sa šećernom bolešću te 36 ispitanika s urednom funkcijom suznog filma (169). Prosječna vrijednost NIBUT-a u skupini ispitanika s proliferativnom dijabetičkom retinopatijom bila je 8 sekunda. Ista je u skupini ispitanika s neproliferativnom dijabetičkom retinopatijom te u zdravih ispitanika bila od 14 do 15 sekunda. Menzies i sur. uspoređivali su vrijednosti NIBUT-a u dvjema skupinama ispitanika, 11 ispitanika sa Sjögrenovim sindromom te deset ispitanika s urednim suznim filmom (170). Prosječan NIBUT u skupini ispitanika sa Sjögrenovim sindromom iznosio je 3,7 sekunda te je bio značajno kraći od istoga u kontrolnoj skupini – 9,5 sekunda. Konačno, bitno kraće prosječne vrijednosti NIBUT-a od oko 7 sekunda, dobili su Sharanjeet-Kaur i sur. kod 145 odraslih zdravih Azijata (171).

Zaključno, prema podacima iz literature prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerenoga Tearscopeom kreću se od 7 do čak 60 sekunda za ispitanike s urednim suznim filmom te od 3,7 do 9 sekunda za ispitanike sa suhim okom.

#### ***Vrijednosti NIBUT-a dobivene korištenjem termografije očne površine:***

U vrijeme pisanja ovog rada, u samo jednoj objavljenoj studiji, Su i sur. iz 2016. g., NIBUT je mjereno termografijom očne površine (157). U studiju su bila uključena 73 ispitanika od kojih je 31 imalo urednu funkciju suznog filma, a 42 bolest suhog oka. Prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene tom metodom iznosile su  $4,5 \pm 0,9$  sekunda u skupini ispitanika s urednim suznim filmom te  $2,1 \pm 1,1$  sekundu u skupini ispitanika sa suhim okom.

#### ***Rezultati funkcionalnih testova:***

Suzni film je prva i najvažnija lomna površina upadnih zraka svjetlosti u oko. Da bi vid bio kvalitetan, suzni film mora biti stabilan, a njegova površina mora biti glatka, ravna i prozirna. U trenutku njegove destabilizacije na površini suznog filma javljaju se nepravilnosti koje rezultiraju pojavom optičkih aberacija višeg reda. Rezultat toga je zamućenje vida (91, 92). Kada pacijent promatra predmet ili optotip na ploči za ispitivanje vidne oštine te ga se zamoli da ne trepće, nakon određenog vremena slika promatranog predmeta mu se zamuti. Trenutak pojave zamućenja slike vremenski korelira s trenutkom pucanja suznog filma na površini rožnice. Budući da je to neinvazivna metoda, vrijeme proteklo od otvaranja oka do pojave zamućenja, izmjereno u sekundama, odgovara vrijednostima NIBUT-a, a mjeri se funkcionalnim testovima. Ishida i sur. mjerili su funkcionalnu vidnu oštrinu korištenjem složenoga matematičkog sustava FVAM-a na 20 ispitanika s urednom funkcijom suznog filma i 13 ispitanika s njegovom disfunkcijom (96). Rezultati su pokazali da su ispitanici s disfunkcijom suznog filma jasno vidjeli optotip (broj ili slovo) prosječno u trajanju od  $8,75 \pm 6,6$  sekunda nakon treptaja. Za razliku od njih, ispitanici s urednom funkcijom suznog filma imali su značajno duži period jasnog vida od  $19,46 \pm 15,97$  sekunda. Rezultate Testa perioda vremena u kojem dolazi do zamućenja linije najbolje korigirane vidne oštine od otvaranja oka (engl. *Post-Blink Blur Time*; PBBT) u svojem radu objavio je I. Petriček (25). Studija je uključila 200 ispitanika; 100 sa simptomima disfunkcije suznog filma i 100 bez njih. Prosječna vrijednost PBBT-a u skupini ispitanika sa simptomima iznosila je 7,1 sekundu, a u skupini bez simptoma 10,82 sekunde. Kada su ispitanici sami mjerili vrijeme od trenutka otvaranja oka pa do pojave zamućenja promatranog optotipa, taj je period bio nešto kraći, a

iznosio je 6,24 sekunde u skupini ispitanika sa suhim okom te 8,86 sekunda u kontrolnoj skupini.

Što se može zaključiti iz rezultata ovih studija? Kao prvo, rezultati tih studija nisu usporedivi jer nisu koristili usporedive metode, instrumente i kriterije dijagnostike. No, unatoč njihovoj heterogenosti, ipak su prisutne neke pravilnosti među njima. Prosječne vrijednosti NIBUT-a u skupinama ispitanika s urednom funkcijom suznog filma kretale su se u rasponu od 2,1 do 44,7 sekunda. Iste vrijednosti bile su kraće te su se kretale od 1,1 do 8,75 sekunda u skupinama ispitanika sa suhim okom. Općenito gledajući, prosječne vrijednosti NIBUT-a izmjerene subjektivnim metodama, keratometrijom i Tearscopeom, bile su prosječno duže od onih izmjerenih objektivnim metodama, videokeratoskopijom i termografijom očne površine, u objema skupinama ispitanika (NIBUT kontrolne skupine: 6 – 44,7 sekunda vs. 2,1 – 19,4 sekunde; NIBUT skupine sa suhim okom: 3,7 – 8,75 sekunda vs. 1,1 – 7,9 sekunda). Zanimljivo, što su vrijednosti NIBUT-a u ispitanika sa suhim okom bile kraće, razlika među istima, dobivenima subjektivnim i objektivnim metodama, bila je manje izražena te su se vrijednosti gotovo izjednačivale. Također, što su bile kraće, vrijednosti NIBUT-a bile su homogenije. Nadalje, prosječne vrijednosti NIBUT-a u skupinama ispitanika s urednom funkcijom suznog filma bile su oko dva puta duže nego one u skupinama ispitanika s bolesti suhog oka. Zamijećen je i širok raspon vrijednosti NIBUT-a u normalnoj populaciji, od 4 do 214 sekunda.

Slijedom navedenoga proizlazi da su se vrijednosti NIBUT-a izmjerene u ovom istraživanju, njihov međudnos u ispitivanim skupinama te raspon kretanja podudarale s vrijednostima NIBUT-a objavljenima u recentnoj literaturi. Najbliže su bile vrijednostima studije Ishide i sur. koji su mjerili funkcionalnu vidnu oštrinu te L. E. Downiea gdje je NIBUT mjeren kornealnim topografom Medmont E300 (96, 165). Vrijednosti su prosječno bile duže od onih izmjerenih videokeratoskopijom te su se kretale u rasponu vrijednosti NIBUT-a dobivenima korištenjem Tearscopea. Stoga se pretpostavlja da ovako mjeren NIBUT, isto kao i prethodno navedene publicirane metode, mjeri isti parametar suznog filma, a to je trenutak njegova pucanja na površini oka nakon treptaja, odnosno BUT. Zbog bolje preglednosti, rezultati svih navedenih studija prikazani su u Tablici 45.

**Tablica 45.** Literarni pregled dosadašnjih istraživanja različitih metoda mjerenja NIBUT-a.

<b>Autori (referencija)</b>	<b>NIBUT kontrole (s)*</b>	<b>NIBUT suho oko (s)*</b>	<b>Metoda</b>	<b>Instrument</b>
Patel i sur. (40)	16	7	keratometrija	Keratometar
Farrell i sur. (133)	-	6,87 ± 2,97	keratometrija	Keratometar
Little i Bruce (134)	15 (3 – 57)	-	keratometrija	Keratometar
Vanley i sur. (163)	18,6 ± 1,2	-	keratometrija	Keratometar
Mengher i sur. (8, 136)	42 (4 – 214)	-	keratometrija	Polukružna ploha
Madden i sur. (137)	35,6	-	keratometrija	Keratometar
	44,7		keratometrija	Polukružna ploha
Kojima i sur. (143)	2,1 ± 1,3	1,1 ± 0,9	videokeratoskopija	TSAS
Hong i sur. (144)	4,3 ± 0,3	2,0 ± 0,2	videokeratoskopija	Keratograph
Koh i sur. (145)	9,7 ± 6,7	4,6 ± 1,3	videokeratoskopija	Keratograph M5
Downie (165)	19,4 ± 5,3	7,9 ± 4,9	videokeratoskopija	Medmont E300
Gumus i sur.(141)	4,9 ± 1,6	2,4 ± 2	videokeratoskopija	Tomey RT 7000
Tonge i sur. (166)	40 – 60	-	interferometrija	Tearscope
Nosch i sur. (152)	34,55 (12,4 – 53,8)	-	interferometrija	Tearscope
Markoulli i sur. (151)	15,9 ± 10,7	-	interferometrija	Tearscope
Markoulli i sur. (151)	10,9 ± 3,9	-	videokeratoskopija	Oculus Keratograph
Nichols i sur. (167)	11,2 ± 6,8	-	interferometrija	Tearscope
Gao i sur. (169)	14 – 15	8	interferometrija	Tearscope
Menzies i sur. (170)	9,5	3,7	interferometrija	Tearscope
Sharanjeet-Kaur i sur. (171)	7	-	interferometrija	Tearscope
Su i sur. (157)	4,5 ± 0,9	2,1 ± 1,1	termografija očne površine	Termograf
Ishida i sur. (96)	19,46 ± 15,97	8,7 ± 6,6	funkcionalna vidna oština	FVAM
Petriček (25)	10,82	7,1	funkcionalna vidna oština	PBBT

\* s - sekunde

### 6.3.1. NIBUT I ISPITIVANE SKUPINE

U ovom istraživanju utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima NIBUT-a između ispitivanih skupina. Iste su bile značajno kraće u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka u svim trima mjerenjima na oba oka. Iz toga proizlazi zaključak da je NIBUT uspješno razlikovao ispitanike sa simptomima bolesti suhog oka od onih koji te simptome nisu imali, odnosno da je uspješno detektirao ispitanike s tim simptomima.

### 6.3.2. PONOVLJIVOST NIBUT-a

Ponovljivost NIBUT-a u ovom istraživanju bila je izvrsna jer su njegove vrijednosti bile ujednačene i nisu značajno varirale između mjerenja na oba oka te unutar ispitivanih skupina, kao ni s obzirom na životnu dob i spol. Stoga se pretpostavlja da ovako izmjeren NIBUT daje pouzdane i objektivne podatke o stvarnom stanju suznog filma već od prvog mjerenja. S jednakom pouzdanošću može se koristiti u bilo kojoj dobi, u obama spolovima te neovisno o prisutnosti smetnji suhog oka. Važno je pritom naglasiti da i samo jedno mjerenje na jednom oku daje vrijednost koja se može smatrati mjerodavnom. Sve navedeno ne odnosi se na osobe mlađe od 18 godina jer iste nisu bile uključene u ovom istraživanju.

## 6.4. INVAZIVNI TEST PUCANJA SUZNOG FILMA

U ovom istraživanju ispitanici bez simptoma bolesti suhog oka imali su prosječno izmjerene vrijednosti TBUT-a od  $9,92 \pm 5,44$  sekunde, a vrijednosti su se kretale u rasponu od 3 do 50 sekunda. Ispitanici sa simptomima imali su prosječno izmjerene vrijednosti TBUT-a od  $6,41 \pm 4,52$  sekunde s rasponom vrijednosti od 2 do 29 sekunda.

Norn je u svojem radu još 1969. godine na uzorku od 202 ispitanika s urednom funkcijom suznog filma izmjerio prosječne vrijednosti TBUT-a od 27 sekunda, a iste su se kretale u rasponu od 3 do 132 sekunde (119). U izvješću Tongea i sur. iz 1991. godine prosječne vrijednosti TBUT-a su se u skupinama ispitanika s urednim suznim filmom kretale u rasponu od 13 do 34 sekunde (166). Raspon vrijednosti TBUT-a u studiji Kallarackala i sur. bio je od 1 do 13 sekunda u 62 ispitanika sa suhim okom i od 10 do 60 sekunda u 50 ispitanika kontrolne skupine (172). Lemp je 1970. godine predložio, a Mengher 1985. godine u svojem radu potvrdio graničnu vrijednost TBUT-a od 10 sekunda (122, 8). S druge strane,

Pflugfelder i sur., Abelson i sur. te Ibrahim i sur. objavili su bitno kraće granične vrijednosti TBUT-a, od oko pet sekunda (173, 123,124). U tim studijama prosječne su vrijednosti TBUT-a u kontrolnoj skupini bile 7,1 i 8,1 sekundu, dok su iste u skupini ispitanika sa suhim okom iznosile 2,2 i 3,5 sekunda. Lee i Kee su na ukupno 50 ispitanika izmjerili prosječne vrijednosti TBUT-a od 14,39 sekunda i 12,55 sekunda za muškarce i žene s urednim suznim filmom, te 5,39 sekunda i 5,25 sekunda za muškarce i žene sa suhim okom (9). Prosječne vrijednosti TBUT-a u studiji Choa iznosile su 7,2 sekunde u Azijata s urednom funkcijom suznog filma (174). Nešto duže prosječne vrijednosti TBUT-a dobili su Kumar i sur. na 216 očiju s disfunkcijom suznog filma i 140 očiju s njihovom urednom funkcijom, a iznosile su  $8,88 \pm 3,54$  sekunde i  $13,53 \pm 2,12$  sekunda (175). S druge strane, u studiji Kurtula i sur. prosječne vrijednosti TBUT-a su u 34 ispitanika sa suhim okom i 21 ispitanika kontrolne skupine iznosile 5,18 sekunda i 7,36 sekunda (176). Nešto kraće prosječne vrijednosti TBUT-a dobio je Petriček I. (25). U skupini od 100 ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka iste su iznosile 4,3 sekunde, a u skupini od 100 ispitanika bez simptoma 8,24 sekunda. Prosječne vrijednosti TBUT-a od  $15,73 \pm 8,89$  sekunda izmjerene su u studiji Asharlousa i sur. na 100 mladih zdravih ispitanika (177). U studiji Gumusa i sur. prosječne vrijednosti TBUT-a u kontrolnoj skupini iznosile su  $9,12 \pm 0,91$  sekundu, u skupini ispitanika s blagim suhim okom  $5,91 \pm 3,1$  sekundu, te u skupini s teškim suhim okom  $2,91 \pm 1,22$  sekunde (141). Rezultati Gumusa i sur. bili su najbliži dobivenima u ovom istraživanju.

Zaključno, iako je TBUT standardni i najprihvaćeniji test u dijagnostici bolesti suhog oka, još uvijek nema dogovora oko standardiziranoga i najboljeg načina njegova provođenja, što rezultira neujednačenošću i širokim rasponom njegovih vrijednosti u postojećoj literaturi.

#### 6.4.1. TBUT I ISPITIVANE SKUPINE

U ovom istraživanju su se vrijednosti TBUT-a značajno razlikovale među skupinama ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i bez njih, u svim trima mjerenjima. To ukazuje da je TBUT, isto kao i NIBUT, uspješno razlikovao ispitanike s tim simptomima od onih bez njih.

#### 6.4.2. PONOVLJIVOST TBUT-a

U skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka nije bilo značajne varijabilnosti vrijednosti TBUT-a između triju mjerenja desnoga i lijevog oka. No, unutar



kontrolne skupine, gdje su vrijednosti testa bile duže, razlika među trima mjerenjima TBUT-a oba oka bila je značajna. Odnosno, što su vrijednosti TBUT-a bile kraće, u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka, njegova ponovljivost je bila bolja, a time i njegova pouzdanost. Zanimljivo je da su u kontrolnoj skupini te vrijednosti bile najkraće u prvom, a najduže u trećem mjerenju. Ekskrecijom i nadomještanjem suza svakim treptajem, volumen fluoresceina u oku sve je manji. Time se smanjuje i njegov utjecaj na stabilnost suznog filma pa se očekuje da će i vrijednosti TBUT-a u svakom sljedećem mjerenju biti duže. Stoga, da bi se dobile što vjerodostojnije vrijednosti TBUT-a, potrebno ga je provoditi u što više mjerenja. Nadalje, u skupini ispitanika sa simptomima nije utvrđena značajna varijabilnost vrijednosti TBUT-a prema životnoj dobi i spolu u svim mjerenjima desnoga i lijevog oka. Istovremeno, u skupini ispitanika bez simptoma, varijabilnost tih vrijednosti prema životnoj dobi bila je značajna. To se očitovalo značajno kraćim vrijednostima TBUT-a u starijih ispitanika. U studiji Choa i sur. provedenoj na ispitanicima s urednom funkcijom suznog filma, također je zamijećena povezanost između starije dobi i kraćih vrijednosti TBUT-a (178). Stoga se nameće pitanje, smije li se pri mjerenju TBUT-a koristiti ista granična vrijednost testa za mlađe i starije osobe ili bi se ista trebala korigirati za dob.

### 6.4.3. USPOREDBA PONOVLJIVOSTI NIBUT-a S PONOVLJIVOŠĆU TBUT-a

U ovom se istraživanju NIBUT, sa svojom izvrsnom ponovljivošću, pokazao pouzdanijim od TBUT-a u rutinskoj dijagnostici bolesti suhog oka. Jednako je bio pouzdan pri njegovim kraćim i dužim vrijednostima, neovisno o prisutnosti simptoma bolesti suhog oka. Stoga, bez obzira ima li ispitanik simptome bolesti suhog oka ili ne, NIBUT-om će se u obama slučajevima dobiti vrijednosti koje se mogu smatrati vjerodostojnima. Za razliku od NIBUT-a, TBUT je imao lošiju ponovljivost pri svojim dužim vrijednostima. To znači da će TBUT u ispitanika bez simptoma bolesti suhog oka, gdje se očekuju njegove duže vrijednosti, dati manje pouzdan rezultat. Nadalje, NIBUT se pokazao i praktičnijim od TBUT-a. Zbog svoje izvrsne ponovljivosti u svim trima mjerenjima na oba oka u objema skupinama ispitanika, NIBUT je dovoljno mjeriti samo jednom, i to samo na jednom oku da bi se dobile mjerodavne vrijednosti. S druge strane, za dobivanje pouzdana rezultata testa, TBUT je potrebno provoditi na oba oka i u što više mjerenja. Preporučuje se provoditi minimalno tri mjerenja svakog oka. Konačno, NIBUT se može jednako pouzdano koristiti u oba spola i u

svakoj životnoj dobi, osim u osoba mlađih od 18 godina jer iste nisu bile uključene u ovom istraživanju. S druge strane, TBUT je u ovom istraživanju pokazao značajnu varijabilnost s obzirom na dob pa se postavlja pitanje potrebe za korekcijom njegovih graničnih vrijednosti prema dobi.

## 6.5. KORELACIJE VRIJEDNOSTI NIBUT-a S VRIJEDNOSTIMA TBUT-a

Rezultati ovog istraživanja utvrdili su da se ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza može na neinvazivan način mjeriti vrijeme pucanja suznog filma nakon treptaja, tj. NIBUT. Izvršna pozitivna povezanost vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima TBUT-a u svim trima mjerenjima desnoga i lijevog oka ( $p < 0,001$ ) ukazuje da obje metode mjere istu pojavu, tj. trenutak pucanja suznog filma nakon treptaja. No, iako mjere isti fizikalni fenomen, te dvije metode uvelike se razlikuju, za početak prema svojoj invazivnosti. Dok je TBUT invazivna metoda koja zahtijeva kapanje fluoresceina u oko, NIBUT mjeren ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza neinvazivan je zato što se suzni film promatra u fiziološkom stanju. Već je ranije objašnjeno da se kapanjem bilo kakve supstancije u oko povećava evaporacija te se time skraćuje stabilnost suznog filma pa je pretpostaviti da bi i vrijednosti TBUT-a trebale biti kraće no one NIBUT-a (8, 53). To je i utvrđeno rezultatima ovog istraživanja. Prosječne vrijednosti NIBUT-a u skupini ispitanika sa simptomima i bez simptoma bile su 9,77 i 21,98 sekunda, a TBUT-a 6,41 i 9,92 sekunde. U objema skupinama ispitanika vrijednosti TBUT-a bile su značajno kraće od vrijednosti NIBUT-a. Razlika među tim vrijednostima bila je izraženija u skupini ispitanika bez simptoma te je u toj skupini zabilježen i veći rasap vrijednosti testova. Istovremeno se vrijednosti obaju testova gotovo izjednačavaju u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka, s prosječnom razlikom od oko 3,4 sekunde. Drugim riječima, što je stabilnost suznog filma bila lošija, vrijednosti obaju testova bile su homogenije, a reproducibilnost testova bolja. Još su Patel i sur. 1985. godine utvrdili da je kapanje fluoresceina skratilo TTT za 3,6 sekunda (40). Iste godine je i Mengher sa sur. utvrdio da se kapanjem fluoresceina u oko skraćuje stabilnost suznog filma i BUT (8). Mooi i sur. su u svojem radu uspoređivali dobivene vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a u ispitanika s urednom funkcijom suznog filma (179). NIBUT je mjeren Tearscopeom, dok je TBUT mjeren dvama načinima. Prvi se provodio korištenjem standardiziranih fluoresceinskih trakica (s-TBUT), a drugi

mikropipetiranjem 1  $\mu$ l 1-postotne otopine fluoresceina (m-TBUT). Studijom je utvrđeno da su prosječne izmjerene vrijednosti TBUT-a i NIBUT-a izvrsno pozitivno korelirale ( $p < 0,001$ ). Prosječne vrijednosti s-TBUT-a bile su kraće od vrijednosti NIBUT-a (8,6 sekunda vs. 10,9 sekunda). Isto tako, vrijednosti s-TBUT-a bile su kraće i od vrijednosti m-TBUT-a (8,6 sekunda vs. 10,6 sekunda). Dakle, vrijednosti s-TBUT-a u prosjeku su bile kraće oko dvije sekunde od onih NIBUT-a i m-TBUT-a, a vrijednosti NIBUT-a i m-TBUT-a gotovo su se izjednačile. To potvrđuje da se korištenjem manjeg volumena fluoresceina manje utječe na stabilnost suznog filma. U studiji Nicholasa i sur. u ispitanika s urednom funkcijom suznog filma prosječna vrijednost NIBUT-a mjenjenog Tearscopeom iznosila je 11,2 sekunde, a TBUT-a 7,6 sekunda (167). Vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a izvrsno su pozitivno korelirale te su se razlikovale u prosjeku 3 – 4 sekunde. U studiji Petričeka I. vrijednosti TBUT-a bile su kraće od vrijednosti PBBT-a te su umjereno pozitivno korelirale u objema skupinama ispitanika, a razlikovale su se u prosjeku za dvije sekunde (4,3 vs. 7,1 sekundu i 8,24 vs. 10,82 sekunde) (25). Hong i sur. su u svojoj studiji, također, potvrdili značajnu pozitivnu povezanost vrijednosti NIBUT-a s TBUT-om, a vrijednosti TBUT-a bile su kraće u prosjeku za 2 sekunde ( $3,2 \pm 2,3$  sekunde vs.  $5,2 \pm 3,4$  sekunde) (144). Rezultati navedenih studija, kao i ovog istraživanja, utvrdili su postojanje izvrsne pozitivne povezanosti vrijednosti NIBUT-a s vrijednostima TBUT-a, pri čemu je NIBUT konstantno bio duži.

Nadalje, u skupini ispitanika sa simptomima vrijednosti obaju testova bile su homogenije. Suprotno tomu, u ispitanika bez simptoma ističe se rasap tih vrijednosti. Drugim riječima, što su njihove vrijednosti bile kraće, to je reproducibilnost obaju testova bila bolja, tj. oba testa pokazala su bolje karakteristike u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka. Slično su dobili i Lee i Kee koji su na uzorku od 30 ispitanika u kontrolnoj skupini i 20 ispitanika sa suhim okom mjerili TBUT u četirima mjerenjima (9). Rezultatima su pokazali da je reproducibilnost TBUT-a bila bolja u skupini ispitanika sa suhim okom od one u kontrolnoj skupini.

U ovom je istraživanju povezanost vrijednosti TBUT-a i NIBUT-a bila značajnija u skupini ispitanika sa simptomima nego u onoj bez njih. Pretpostavlja se da osobe sa smetnjama bolesti suhog oka i kraćim vrijednostima NIBUT-a imaju i kraće vrijednosti TBUT-a. Drugim riječima, patološke vrijednosti obaju testova povećavaju vjerojatnost da osoba ima suho oko. Najznačajnija povezanost vrijednosti TBUT-a i NIBUT-a, zabilježena u skupini ispitanika sa simptomima, bila je u trećem mjerenju. U kontrolnoj skupini povezanost je bila najbolja u trećem, a najlošija u prvom mjerenju. Činjenica je da fluorescein iz mjerenja u mjerenje ima sve manji utjecaj na stabilnost suznog filma. Njegova se koncentracija u

suzama smanjuje otplavlivanjem i nadomještanjem novih suza. U svakom sljedećem mjerenju dobivene vrijednosti TBUT-a vjerodostojnije su te se sve više približavaju onima NIBUT-a. Stoga, u rutinskoj praksi nije pravilno TBUT provesti odmah nakon kapanja fluoresceina u oko jer se time povećava šansa dobivanja nepouzdatih vrijednosti testa. Potrebno je pričekati nekoliko sekunda nakon kapanja, potom provesti nekoliko mjerenja na oba oka. Nasuprot tomu, pri provođenju NIBUT-a u oko se ništa ne kapa, vrijeme koje protekne između mjerenja kao i broj mjerenja ne mijenjaju vjerodostojnost izmjerenih vrijednosti pa se samo jedno mjerenje na samo jednom oku može smatrati mjerodavnim.

## 6.6. NIBUT I DRUGI ZNAKOVI BOLESTI SUHOG OKA

U ovom istraživanju utvrđena je izvrsna pozitivna povezanost NIBUT-a s TBUT-om, no kakva je povezanost NIBUT-a s ostalim kliničkim znakovima bolesti suhog oka?

*Način pucanja suznog filma na površini oka.* Za vrijeme mjerenja NIBUT-a autor ovog rada primijetio je da suzni film na površini rožnice puca na dva načina: u obliku linearnih pukotina i granularno. Pucanje suznog filma u obliku linearnih pukotina bilo je učestalije u ispitanika s kraćim vrijednostima NIBUT-a dok je granularni način pucanja bio češći u onih s dužim vrijednostima. Iz toga proizlazi da način pucanja suza na površini rožnice uvelike ovisi o njihovoj stabilnosti. Smanjena stabilnost suza temeljni je pokazatelj bolesti suhog oka pa se i njihovo pucanje u obliku linearnih pukotina može smatrati karakterističnim za istu. Nije bilo značajne povezanosti ove ispitivane varijable i intenziteta simptoma bolesti suhog oka. Izgled pucanja suznog filma u obliku linearnih pukotina također su utvrdili Ousler i sur. te Masters i sur. u skupini ispitanika sa suhim okom, uspoređujući rezultate Schirmer testa i TBUT-a (44, 180). Pitanje je, koji su to čimbenici koji utječu na izgled pucanja suznog filma na površini oka. Odgovor je vjerojatno u kvaliteti i količini lipidnog sloja te međuodnosu lipidnoga i vodenog sloja. Lipidni sloj svojim pravilnim rasprostiranjem preko vodene komponente sprečava njezinu evaporaciju i produžuje vrijeme stabilnoga suznog filma na površini oka. Pritom je potreban pravilan omjer njegovih elemenata kao i njegova uredna debljina (poglavlje 1.1.2.3.). Kada je tanak, lipidni sloj puca nekoliko sekunda nakon treptaja, što rezultira brзом evaporacijom vodene komponente na mjestima njegovih pukotina, a to se vidi poput tamnih linearnih zona na površini. Kada je lipidni sloj deblji, evaporacija vodene komponente nastupa prije njegova pucanja budući da je on veoma stabilan. Suzni film na površini oka poprma granularni izgled, a lipidni sloj

čitavom površinom rožnice postaje nepravilan, gubi svoju sjajnost i glatkoću, kao da "dehidrira".

**Debljina lipidnog sloja suza (engl. LLT).** Ispitanici sa simptomima bolesti suhog oka imali su značajno tanji lipidni sloj nego oni bez tih simptoma. Znači da je LLT uspješno razlikovao te dvije skupine ispitanika. Isto tako, utvrđena je značajna pozitivna povezanost vrijednosti NIBUT-a s LLT-om, na način da su ispitanici s kraćim vrijednostima imali tanji lipidni sloj. To potvrđuje ranije istaknutu činjenicu da su debljina lipidnog sloja suznog filma i njegova stabilnost međusobno povezane (poglavlje 1.1.2.5.). Slične rezultate su, koristeći Tearscope i modificirani Servomed evaporimetar, dobili Craig i Tomlinson u skupini od ukupno 160 ispitanika (181). Procjena debljine lipidnog sloja temeljila se na njegovu interferometrijskom izgledu, a stupnjevala Guillonovom skalom (26). Ispitanici koji su imali kategorije tanjega lipidnog sloja imali su značajno više stope evaporacije i kraći NIBUT. Isto tako su Nosch i sur. utvrdili umjerenu pozitivnu povezanost vrijednosti NIBUT-a i LLT-a u ispitanika s urednim suznim filmom (152). Oni su u svojem radu za mjerenje NIBUT-a i procjenu LLT-a koristili Tearscope.

Ovim istraživanjem utvrđena značajna pozitivna povezanost debljine lipidnog sloja s vrijednostima NIBUT-a i sa simptomima bolesti suhog oka govori u prilog pouzdanosti ručnog instrumenta u mjerenju tih parametara te uspješnosti ovih metoda u detekciji ispitanika sa smetnjama suhog oka.

**Hiperemija spojnice (engl. CCRLU).** Hiperemija spojnice bila je značajno pozitivno povezana sa simptomima bolesti suhog oka, odnosno značajno negativno povezana s vrijednostima NIBUT-a. To upućuje da je ista bila izraženija u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i s kraćim vrijednostima NIBUT-a. No, iako se radi o znaku koji je koristan, on nije dovoljno osjetljiv ni specifičan za suho oko. U praksi suho oko često nije crveno, što treba imati na umu u svakodnevnom radu.

**Nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe (engl. LIPCOF).** Utvrđena je značajna razlika u vrijednostima LIPCOF-a oba oka među skupinama. Skupina sa simptomima bolesti suhog oka imala je više vrijednosti nego kontrolna skupina. To znači da LIPCOF zajedno s NIBUT-om, TBUT-om i LLT-om uspješno detektira osobe sa simptomima bolesti suhog oka. Povezanost NIBUT-a i LIPCOF-a također je bila značajna. Njegove vrijednosti bile su veće u ispitanika s kraćim vrijednostima NIBUT-a. Slične rezultate negativne povezanosti LIPCOF-a s TBUT-om i PBBT-om utvrdio je i Petriček I. u svojem radu (25).

**Bojenje rožnice fluoresceinom.** Pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom, graduiran NEI skalom, bio je češći u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka nego u onih

bez tih simptoma. Isto tako, ispitanici s kraćim NIBUT-om imali su češće pozitivan nalaz bojenja rožnice fluoresceinom nego oni s dužim vrijednostima NIBUT-a. Iako se može reći da je ovaj znak uspješno detektirao ispitanike sa simptomima i kraćim vrijednostima NIBUT-a, samo je oko 40 % tih ispitanika imalo fluoresceinom obojene vidljive defekte rožnice. Bojenje rožnice fluoresceinom nije specifično za suho oko, a može se reći da nije ni dovoljno osjetljivo, no često se u rutinskoj dijagnostici bolesti suhog oka koristi zajedno s drugim testovima za procjenu težine bolesti. Obično je znak teže disfunkcije suza. Distribucija fluorescein pozitivnih zona na rožnici u ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka bila je uglavnom u njezinoj donjoj trećini, što je karakteristično za bolest suhog oka (104).

U ovom istraživanju svi su se klinički znakovi bolesti suhog oka, osim načina pucanja suznog filma na površini rožnice, značajno razlikovali među skupinama ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka i ispitanika bez tih simptoma. To ukazuje da su uspješno detektirali one ispitanike sa smetnjama te bolesti. Isto tako, svi su bili značajno povezani s vrijednostima NIBUT-a, a ta povezanost bila je najznačajnija u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka. Naime, što su vrijednosti NIBUT-a bile kraće u ispitanika sa simptomima, to su bolje korelirale s ostalim znakovima bolesti suhog oka. Metode procjene tih znakova, uključujući i NIBUT, pokazale su bolje performanse u toj skupini ispitanika. Isto tako, s obzirom da svaki od znakova prikazuje jedan dio patofiziološkog procesa bolesti suhog oka, procjenom više njih obuhvaća se veći dio cjeline te se povećava šansa za pouzdanijom dijagnostikom. Najznačajnija povezanost u objema skupinama ispitanika bila je ona između vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a, što ni ne čudi budući da mjere isti parametar suznog filma, njegovu stabilnost. Dosad je u brojnim studijama utvrđena značajna pozitivna povezanost vrijednosti NIBUT-a s TBUT-om, što je istaknuto u prethodnom poglavlju 6.5. (25, 144, 165, 167, 179). Umjerena pozitivna povezanost između NIBUT-a i LLT-a utvrđena je u studiji Nicholisa i sur. (167). U radu Pulta i sur. najznačajnija povezanost svih ispitivanih znakova bolesti suhog oka bila je ona između vrijednosti NIBUT-a i LIPCOF-a (182). NIBUT i pozitivan nalaz bojenja rožnice i spojnice fluoresceinom također su bili značajno negativno povezani. Ostali znakovi koji su se ispitivali: visina suznog meniska, hiperemija spojnice, količina meibuma i OSDI upitnik, pokazivali su slabiju povezanost s NIBUT-om. Petriček I. također je utvrdio umjereno značajnu negativnu povezanost PBBT-a i LIPCOF-a (25).

## 6.7. NIBUT I SIMPTOMI BOLESTI SUHOG OKA

Ranije je istaknuto da NIBUT izmjeren korištenjem ručnog instrumenta uspješno razlikuje ispitanike sa simptomima bolesti suhog oka od onih bez tih simptoma. No, postoji li povezanost između intenziteta simptoma i vrijednosti NIBUT-a? Rezultati ovog istraživanja utvrdili su da postoji. Značajna negativna povezanost između ukupnog zbroja simptoma bolesti suhog oka i vrijednosti NIBUT-a oba oka ( $p < 0,001$ ) ukazuje da su ispitanici s većim zbrojem bodova, odnosno izraženijim simptomima, imali kraći NIBUT. Slično su prikazali Pult i sur. te Hong i sur. mjereći NIBUT Tearscopeom i Keratographom u odnosu na OSDI upitnik (182, 144). Suprotno tomu, puno veći broj studija utvrdio je lošu povezanost simptoma i znakova bolesti suhog oka (79 – 82, 158). Jedna od većih je metaanaliza Sullivana i sur. temeljena na podacima 11 istraživanja korelacije simptoma i znakova bolesti suhog oka provedenih u Europi i SAD-u (158). U njoj su TBUT, test bojenja rožnice, hiperemija spojnice i Schirmer test loše korelirali s OSDI upitnikom. Umjerenu povezanost sa simptomima imao je jedino test osmolarnosti. Možda bi ta povezanost u navedenim studijama bila bolja da se u njima istraživao NIBUT. To je neinvazivna metoda koja omogućuje pouzdanu procjenu funkcije suznog filma. TBUT i Schirmer test invazivne su metode koje narušavaju cjelovitost suza, ne daju vjerodostojne podatke o stabilnosti suza pa ni ne čudi da loše koreliraju sa simptomima i ostalim znakovima bolesti.

S obzirom na odličnu povezanost NIBUT-a s TBUT-om i ostalim kliničkim znakovima i simptomima bolesti suhog oka proizlazi da je ispitivana metoda mjerenja NIBUT-a pouzdana i objektivna metoda u procjeni funkcije suznog filma.

## 6.8. NIBUT I TIP KOŽE LICA

U ovom istraživanju željelo se ispitati postoji li povezanost između samopercepcije tipa kože lica, simptoma bolesti suhog oka i vrijednosti NIBUT-a. U tu svrhu ispitanici su na kraju upitnika dobili dva dodatna pitanja kojima su subjektivno procijenili stupanj suhoće ili masnoće kože lica. Poznato je da su Meibomove žlijezde modificirane žlijezde lojnice te je njihova funkcija, kao i funkcija žlijezda lojnica u velikoj mjeri regulirana istim hormonalnim putovima. Kao što Meibomove žlijezde proizvode meibum, tako i žlijezde lojnice proizvode sebum koji štiti vanjske slojeve kože od dehidracije. Nedostatak sebuma rezultira osjećajem suhoće kože, kao što i deficit meibuma rezultira simptomima suhog oka. U ovom su se

istraživanju ispitanici sa simptomima bolesti suhog oka žalili na sušu kožu čela i obraza, dok su ispitanici bez simptoma imali masniju kožu čela. Nadalje, ispitanici sa simptomima i s kraćim vrijednostima NIBUT-a imali su izraženiju suhoću kože. Najznačajnija povezanost utvrđena je između vrijednosti NIBUT-a i suhoće kože čela. Slične je rezultate dobio i Petriček I. u doktorskoj disertaciji na uzorku od 200 ispitanika (25). U tom su se radu ispitanici, koji su imali izraženije simptome disfunkcije suznog filma, žalili i na sušu kožu lica, a povezanost između tipa kože lica i znakova suhog oka bila je lošija.

Utvrđena povezanost simptoma bolesti suhog oka i vrijednosti NIBUT-a sa subjektivnim doživljajem tipa kože mogla bi se koristiti u rutinskom radu u općim oftalmološkim ambulancama i ordinacijama obiteljske medicine za probir bolesnika sa suhim okom kada sofisticiranije metode dijagnostike nisu dostupne.

## 6.9. UNIVARIJANTNA I MULTIPLA LOGISTIČKA REGRESIJA

Jačina i neovisnost povezanosti bolesti suhog oka i ispitivanih varijabli procijenjeni su logističkom regresijom. Glavni prediktori i indikatori bolesti suhog oka u ovom istraživanju bili su: starija životna dob, ženski spol, kraći NIBUT i TBUT, tanji lipidni sloj, izraženija hiperemija spojnice, viši LIPCOF, pozitivan test bojenja fluoresceinom i suša koža lica.

Spearman Rank Order neparametrijskim testom korelacije nije se utvrdila statistički značajna povezanost dobi i spola sa simptomima bolesti suhog oka. No, logističkom regresijom, pouzdanijom statističkom metodom koja standardizira uzorak, utvrđena je značajna povezanost istih varijabli i rizika za prisutnost suhog oka. Glavni prediktori za bolest suhog oka prema logističkoj regresiji bili su starija životna dob i ženski spol, ali samo nakon standardizacije rezultata za dob. Ovdje treba naglasiti da je izostanak značajnosti u Spearman Rank Order neparametrijskom testu posljedica velike asimetrije uzoraka zbog čega rezultate testiranja značajnosti razlike prema dobi i spolu ovim testom, ne možemo smatrati pouzdanima. Bolja raspodjela ispitanika prema životnoj dobi i povećanje uzorka muškaraca u istraživanju, povećali bi pouzdanost, statističku značajnost čak i u osnovnoj statističkoj analizi.

Nadalje, vrijednosti NIBUT-a mjerene ručnim instrumentom regresijskom analizom pokazale su se konzistentnijima i jače povezanima sa suhim okom te ih se može smatrati mjerodavnijima u dijagnostici bolesti suhog oka od vrijednosti TBUT-a. Ostali klinički



znakovi bolesti suhog oka, tanji LLT, izraženija hiperemija spojnice, viši LIPCOF i bojenje rožnice fluoresceinom pokazali su, također, značajnu povezanost s rizikom za prisutnost suhog oka. No, jačina povezanosti ostalih znakova i suhog oka bila je lošija nego ona NIBUT-a i suhog oka. Stoga se može zaključiti da su od svih pokazatelja, uključujući i TBUT, kraće vrijednosti NIBUT-a bile najbolji prediktor i indikator bolesti suhog oka. Vrlo interesantno je da se samopercepcija tipa kože lica također pokazala značajnim prediktorom za prisutnost bolesti, pri čemu je samopercepcija tipa kože čela bila povezanija sa simptomima, no samopercepcija kože obraza. To bi se moglo koristiti u rutinskom radu s bolesnicima s obzirom na to da je suho oko bolest pandemijskih razmjera te zahtijeva praktičnu i brzu dijagnostiku. Oftalmolozi i specijalisti opće medicine često su primorani u što kraćem vremenu pravilno usmjeriti bolesnika i detektirati problem. Prisutnost simptoma bolesti suhog oka zajedno sa sušom kožom lica, u prvom redu čela, visoko je indikativna za bolest suhog oka.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da se NIBUT mjeren ručnim instrumentom može smatrati dosljednom i pouzdanom metodom u dijagnostici bolesti suhog oka. Ovako izmjerene vrijednosti NIBUT-a bile su konzistentnije i povezanije s prisutnošću simptoma bolesti suhog oka nego vrijednosti TBUT-a i svih ostalih kliničkih znakova iako su i oni pokazivali dobru povezanost. Bolest suhog oka je kompleksna i još uvijek se traži najbolji način njezine detekcije, stoga nije potrebno isticati antagonizam njezinih pokazatelja, već sinergiju u njezinoj što praktičnijoj, dostupnijoj, točnijoj i pouzdanijoj dijagnostici.

## 6.10. DIJAGNOSTIČKA TOČNOST NIBUT-a

Ono što vodi kliničara pri odabiru testa za dijagnosticiranje neke bolesti, dijagnostička su obilježja tog testa, tj. njegova osjetljivost i specifičnost. Ona govore o uspješnosti testa u ispravnoj detekciji neke bolesti. Međutim, nakon što je pretraga obavljena, liječnika zanima točnost te pretrage. U tu svrhu koriste se njegove prediktivne vrijednosti koje govore s kolikom je vjerojatnošću detektirana osoba ispravno razvrstana kao bolesna ili zdrava.

### 6.10.1. DIJAGNOSTIČKA OBILJEŽJA NIBUT-a

Ovo istraživanje pokazalo je da su osjetljivost i specifičnost istraživane metode mjerenja NIBUT-a bile najbolje pri graničnoj vrijednosti NIBUT-a od 12 sekunda, a iznosile

su 80,4 % i 71,1 %. Dakle, od deset ispitanika sa suhim okom njih osmero imalo je patološke vrijednosti NIBUT-a  $\leq 12$  sekunda te su isti bili ispravno detektirani kao bolesni. S druge strane, od deset ispitanika bez suhog oka, njih sedmero je imalo uredne vrijednosti NIBUT-a  $> 12$  sekunda te su oni bili ispravno detektirani kao zdravi. Drugim riječima, vjerojatnost da će osoba sa smetnjama suhog oka ovom metodom biti detektirana kao bolesna je 80,4 % te da će osoba bez smetnji suhog oka biti detektirana kao zdrava 71,1 %. Ovi rezultati ukazuju da je NIBUT mjeren korištenjem ručnog instrumenta učinkovita metoda u dijagnostici bolesti suhog oka. Vrijednosti NIBUT-a  $\leq 12$  sekunda smatraju se patološkim ili pozitivnim vrijednostima, a one  $> 12$  sekunda njegovim negativnim ili urednim vrijednostima.

Prema smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko (TFOS DEWS II) predlaže se da granična vrijednost NIBUT-a mjenoga subjektivnim metodama bude deset sekunda (11). Osjetljivost ovdje istraživanoga NIBUT-a bila je lošija pri toj vrijednosti testa nego pri onoj od 12 sekunda, 78,6 % vs. 80,4 %. S druge strane, specifičnost je bila nešto bolja, 75 % vs. 71,1 %, što je i logično jer s povećanjem specifičnosti metode pada njezina osjetljivost. No, osim blagoga poboljšanja specifičnosti, dijagnostičke sposobnosti ove metode bile su bolje prema graničnoj vrijednosti od 12 sekunda nego prema onoj predloženoj u smjernicama.

Nadalje, izgled ROC krivulje i velika površina ispod nje u ovom istraživanju također upućuju na vrlo dobru učinkovitost i točnost NIBUT-a mjenoga ručnim instrumentom u detekciji ispitanika sa suhim okom (AUC desnog oka = 0,832; AUC lijevog oka = 0,846).

Postavlja se pitanje, kakva je učinkovitost ove metode u usporedbi s drugim metodama mjerenja NIBUT-a? Osjetljivost i specifičnost NIBUT-a mjenoga Mengherovom metodom keratometrije iznosile su 82 % i 86 % (136). NIBUT mjenoga korištenjem TMS-1 kornealnog topografa je, u radu Gotoa i sur., imao osjetljivost i specifičnost od 97,5 % i 62,5 % (139). Nadalje, osjetljivost i specifičnost NIBUT-a mjenoga korištenjem Tomey RT7000 kornealnog topografa iznosile su 82 % i 88 %, u radu Gumusa i sur. (141). U navedenim studijama, kao i u ovom istraživanju, bolest suhog oka bila je definirana prisutnošću njezinih simptoma, što ih čini usporedivima. Hong i sur. izvještavaju da su osjetljivost i specifičnost NIBUT-a mjenoga Oculus keratografom, pri graničnoj vrijednosti NIBUT-a od 2,5 sekunda, bile 84 % i 75 %, dok je AUC bio 0,83 (144). U studiji L. E. Downiea granična vrijednost pri kojoj su utvrđene najbolja osjetljivost i specifičnost NIBUT-a mjenoga Medmont E300 kornealnim topografom je, također, bila 12 sekunda (165). Njezina osjetljivost, specifičnost i AUC iznosile su 81,1 % i 92 % te 0,92. Isti parametri za termografiju očne površine iznosili su 80 %, 89 % te 0,88 (157). Temeljem rezultata

navedenih studija može se zaključiti da osjetljivost NIBUT-a u literaturi iznosi od 80 % do 97 %, a specifičnost od 62,5 % do 92 %. Isti parametri ovdje mjerenoga NIBUT-a unutar su raspona onih publiciranih u literaturi te se njime može podjednako učinkovito detektirati suho oko. NIBUT mjeren korištenjem ručnog instrumenta rezultatima je najbliži metodi videokeratoskopije Oculus Keratographom objavljenoj u radu Honga i sur. (144). Ta se metoda od ovdje istraživane razlikuje po njezinoj kraćoj graničnoj vrijednosti što je i očekivano s obzirom na to da je automatizirana (2,5 sekunda vs. 12 sekunda). Istu graničnu vrijednost NIBUT-a od 12 sekunda, s podjednakom osjetljivošću i nešto višom specifičnošću u usporedbi s ovdje istraživanom metodom, dobio je L. E. Downie korištenjem Medmont E 300 kornealnog topografa (165).

Sve navedeno ukazuje da se NIBUT mjeren ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza može smatrati validnom metodom u dijagnostici bolesti suhog oka.

## 6.10.2. POZITIVNA I NEGATIVNA PREDIKTIVNA VRIJEDNOST TE DIJAGNOSTIČKA TOČNOST NIBUT-a

Kao mjere točnosti dijagnostičke metode koriste se njezina pozitivna i negativna prediktivna vrijednost te dijagnostička točnost. Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) govori koliki udio osoba s pozitivnim nalazom stvarno ima bolest (stvarno pozitivni), a negativna prediktivna vrijednost (NPV) govori koliki udio osoba s negativnim nalazom stvarno nema bolest (stvarno negativni). Dijagnostička točnost metode označava koliki je udio osoba njome ispravno razvrstan (zbroj stvarno pozitivnih i stvarno negativnih / ukupan broj ispitanika).

U ovom istraživanju pri graničnoj vrijednosti NIBUT-a od 12 sekunda PPV je iznosila 75 %, a NPV 77 %. Od četvero ispitanika s pozitivnim nalazom NIBUT-a  $\leq$  12 sekunda, troje ih je imalo suho oko, a jedan nije pa je on bio lažno pozitivan. Istovremeno, od ukupno deset ispitanika s negativnim vrijednostima testa  $>$  12 sekunda, osmero ih nije imalo suho oko, a dvoje je bilo lažno negativno, tj. imalo je suho oko, ali ne i pozitivan nalaz. Time se dobila i dijagnostička točnost NIBUT-a koja je iznosila 76 %. Dakle, provođenjem NIBUT-a u ovom istraživanju, troje od četvero ispitanika bilo je odgovarajuće razvrstano kao bolesno ili zdravo, što potvrđuje da se radi o metodi s vrlo dobrom točnošću.

### 6.10.3. USPOREDBA DIJAGNOSTIČKE TOČNOSTI NIBUT-a s DIJAGNOSTIČKOM TOČNOŠĆU TBUT-a

Jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je usporediti NIBUT sa standardnim, rutinskim testom u dijagnostici bolesti suhog oka, tj. TBUT-om.

ROC analizom utvrđeno je da je NIBUT imao značajno bolju učinkovitost i točnost u detekciji osoba sa suhim okom od TBUT-a (AUC: NIBUT = 0,832; AUC: TBUT = 0,706).

Osjetljivost i specifičnost TBUT-a bile su 75 % i 52 %. Njegova dijagnostička obilježja utvrđena su prema preporučenoj graničnoj vrijednosti TBUT-a od deset sekunda, definiranoj važećim i općeprihvaćenim smjernicama Internacionalne radne skupine za suho oko, TFOS DEWS II. Istovremeno, osjetljivost i specifičnost NIBUT-a bile su bolje za graničnu vrijednost od 12 sekunda, 80,4 % vs. 75 % i 71,1 % vs. 52 %, kao i za preporučenu graničnu vrijednost od 10 sekunda, 78,6 % vs. 75 % i 75 % vs. 52 %. Time je utvrđeno da je NIBUT imao značajno bolje dijagnostičke sposobnosti od TBUT-a u detekciji ispitanika sa suhim okom te ga se može smatrati boljim u njegovoj rutinskoj dijagnostici od standardnoga općeprihvaćenog testa procjene stabilnosti suznog filma, tj. TBUT-a.

Iz svega proizlazi da je NIBUT mjereno ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza validna, pouzdana, dosljedna, učinkovita i točna metoda, pouzdanija od standardnoga, rutinskoga TBUT-a u praktičnoj dijagnostici bolesti suhog oka.

### 6.11. OGRANIČENJA ISTRAŽIVANJA

Među ograničenjima ovog istraživanja treba istaknuti da se ispitivana metoda mjerenja NIBUT-a nije uspoređivala sa standardnom ni s drugim metodama mjerenja NIBUT-a, već s TBUT-om. Standardni uređaj za mjerenje NIBUT-a, Tearscope, koji funkcionira na istom principu kao i ručni instrument, nepraktičan je i nepristupačan te je njegova proizvodnja obustavljena, a uređaj je nedostupan oftalmolozima u rutinskom radu. Usporedba mjerenja NIBUT-a korištenjem ručnog instrumenta sa standardnom metodom dala bi bolji uvid u dijagnostičku učinkovitost, točnost, pouzdanost i praktičnost ispitivane metode. Druge metode mjerenja NIBUT-a nisu šire prihvaćene, njihove prosječne vrijednosti kreću se u širokim rasponima, a referentnih vrijednosti za sada nema. Ovo istraživanje jedno je od prvih koje je ispitivalo mogućnost neinvazivnoga mjerenja pucanja suznog filma korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza i stoga u literaturi za sada još uvijek

nema dovoljno opisanih sličnih rezultata, praktičnih iskustava i korisnih rasprava. Sve navedeno otežavalo je usporedbu i interpretaciju rezultata ovog istraživanja. Da bi se potvrdili rezultati i utvrdile stvarne referentne vrijednosti NIBUT-a mjenoga ručnim instrumentom, dobivene u ovom istraživanju, u budućnosti će biti potrebno provesti daljnja istraživanja na većem broju ispitanika i možda u većem broju centara.

Ograničavajući čimbenik ovog istraživanja bio je i premali broj muškaraca uključenih u istraživanje, gotovo dvostruko manji od broja žena. Iako je suho oko učestalije kod žena, rezultati osnovnih statističkih testova nisu to potvrdili. Povezanost između ženskog spola i simptoma bolesti suhog oka u osnovnoj statističkoj analizi nije bila statistički značajna, no postojala je tendencija povećanja simptoma u žena starije životne dobi. Stoga se pretpostavlja da bi povećanje broja muškaraca u istraživanju i bolja raspodjela ispitanika prema životnoj dobi i spolu povećala ne samo pouzdanost nego i statističku značajnost čak i u osnovnoj statističkoj analizi, čemu svjedoče rezultati multiple logističke regresije ovog istraživanja.

## 7. ZAKLJUČAK

- Prosječne vrijednosti NIBUT-a bile su značajno kraće u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka od vrijednosti istih u skupini ispitanika bez tih simptoma. NIBUT mjeren korištenjem ručnog instrumenta uspješno je razlikovao te dvije skupine ispitanika.
- Vrijednosti NIBUT-a izvrsno su pozitivno korelirale s vrijednostima TBUT-a u svim trima mjerenjima na oba oka ( $p < 0,001$ ). Obje metode mjerile su isti parametar funkcije suza, a to je vrijeme pucanja suznog filma nakon treptaja (BUT).
- Vrijednosti NIBUT-a vrlo dobro su pozitivno korelirale s LLT-om dok je povezanost s LIPCOF-om, hiperemijom spojnice i bojenjem rožnice fluoresceinom pokazala značajnu negativnu korelaciju. Kraće vrijednosti NIBUT-a bile su povezane s pukotinastim načinom pucanja suznog filma, a dulje s granularnim. Isto tako, NIBUT je pokazao značajnu negativnu povezanost s težinom i učestalošću simptoma suhog oka. Stoga, ovako mjeren NIBUT objektivna je i pouzdana metoda u procjeni funkcije suznog filma.
- NIBUT je pokazao izvrsnu ponovljivost, a njegove vrijednosti nisu značajno varirale između mjerenja na oba oka te unutar ispitivanih skupina, kao ni s obzirom na životnu dob ni spol. Prije svega, pokazao je izvrsnu ponovljivost pri njegovim kraćim i dužim vrijednostima te time i podjednaku pouzdanost u objema skupinama ispitanika, neovisno o prisutnosti simptoma bolesti suhog oka. Pritom je samo jedno mjerenje na jednom oku dalo vrijednosti koje se mogu smatrati mjerodavnima.
- NIBUT mjeren korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza pokazao se praktičnom, jednostavnom i dostupnom metodom za rutinsku primjenu u svakodnevnom radu oftalmologa. Uređaj je dostupan svima, a njegova primjena produžila je standardni oftalmološki pregled za samo 5 – 10 minuta.
- NIBUT se pri graničnoj vrijednosti od 12 sekunda pokazao kao pouzdana, točna i učinkovita metoda u detekciji ispitanika sa suhim okom s boljom ponovljivošću, osjetljivošću, specifičnošću i AUC-om od TBUT-a. Njegove vrijednosti značajnije su korelirale te su bile konzistentnije sa simptomima suhog oka od TBUT-a. NIBUT se također pokazao kao bolji prediktor i indikator bolesti suhog oka od TBUT-a i svih ostalih ispitivanih kliničkih znakova te bolesti.

- Ovo istraživanje potvrdilo je da se ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suza može na pouzdan, točan, dostupan i praktičan način mjeriti NIBUT.
- Istraživana metoda mjerenja NIBUT-a pokazala je bolje dijagnostičke karakteristike od standardnoga općeprihvaćenog testa u dijagnostici bolesti suhog oka, TBUT-a. Stoga je moguće uvođenje ove metode u svakodnevnu rutinsku oftalmološku praksu.

## 8. KRATAK SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

**Naslov:** PROCJENA DEBLJINE LIPIDNOGA SLOJA MJERENJEM PUCANJA SUZNOGA FILMA RUČNIM INSTRUMENTOM

**Autor:** Sania Vidas Pauk, 2019.

**Cilj:** Ispitati izvedivost i pouzdanost mjerenja neinvazivnog testa pucanja suznog filma (NIBUT) korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza te ovu metodu usporediti sa standardnim invazivnim testom (TBUT). **Metode:** U istraživanje je bilo uključeno 108 ispitanika, 56 sa simptomima bolesti suhog oka i 52 bez tih simptoma. Za procjenu simptoma suhog oka koristio se standardni Scheinov upitnik, a za procjenu njegovih kliničkih znakova NIBUT, TBUT, debljina lipidnog sloja, hiperemija spojnice, nabori spojnice paralelni s rubom vjeđe te bojenje rožnice fluoresceinom. **Rezultati:** Prosječne vrijednosti NIBUT-a i TBUT-a bile su značajno kraće u skupini ispitanika sa simptomima bolesti suhog oka nego u kontrolnoj skupini u svim trima mjerenjima. Vrijednosti NIBUT-a izvrsno su korelirale s vrijednostima TBUT-a te su dobro korelirale sa simptomima i ostalim kliničkim znakovima bolesti suhog oka. NIBUT je pri graničnoj vrijednosti od 12 sekunda imao bolju osjetljivost, specifičnost te veće područje ispod krivulje (AUC) od TBUT-a pri graničnoj vrijednosti od 10 sekunda. Njegove vrijednosti bile su povezanije i konzistentnije sa simptomima bolesti suhog oka nego vrijednosti TBUT-a. Imao je bolju ponovljivost te se pokazao kao bolji prediktor i indikator bolesti suhog oka od TBUT-a. **Zaključak:** NIBUT mjeren korištenjem ručnog instrumenta za procjenu debljine lipidnog sloja suza je praktična, dostupna, jednostavna, a prije svega učinkovita, točna i pouzdana metoda u dijagnostici bolesti suhog oka koja bi mogla naći mjesto u svakodnevnome rutinskom radu oftalmologa te bi mogla biti bolja od standardnog TBUT-a u rutinskoj detekciji pacijenata sa suhim okom.



## 9. KRATAK SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU

**Title:** NON-INVASIVE TEAR BREAK-UP TIME MEASUREMENT USING HANDHELD LIPID LAYER THICKNESS ASSESSMENT TOOL

**Author:** Sania Vidas Pauk, 2019.

**Aim:** To determine feasibility and reliability of non-invasive tear break-up time (NIBUT) assessment using handheld tear lipid layer thickness assessment tool, and to compare it with standard tear break-up time (TBUT) test. **Methods:** 108 patients were enrolled, 56 with and 52 without dry eye symptoms. Schein questionnaire was used order to determine the severity of dry eye symptoms. Ocular signs were assessed by NIBUT, TBUT, lipid layer thickness measurement, Lid-Parallel Conjunctival Folds, conjunctival hyperemia and corneal staining. **Results:** Mean NIBUT and TBUT values were significantly shorter in dry eye symptoms group than in control group. NIBUT showed great correlation with TBUT as well as with other dry eye ocular signs and symptoms. Cutoff value to distinguish patients with symptoms of dry eye from control group was 12 seconds for NIBUT and 10 seconds for TBUT, with NIBUT having significantly higher sensitivity, specificity, area under the receiver operating characteristic curve, and repeatability. NIBUT was stronger connected and more consistent with dry eye than TBUT. Finally, it was better predictor and indicator of dry eye. **Conclusion:** NIBUT measured by handheld instrument is simple, accessible, practical and, most of all, accurate and reliable method, superior than TBUT in dry eye diagnostics.

## 10. POPIS LITERATURE

1. Rieger G. The importance of the precorneal tear film for the quality of optical imaging. *Br J Ophthalmol.* 1992;76(3):157-8.
2. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, i sur. TFOS DEWS II epidemiology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):334-65.
3. International dry eye workshop. The definition and classification of dry eye disease: report of definition and classification subcommittee of international dry eye workshop. *Ocul Surf.* 2007;5(2):75-92.
4. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, i sur. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):276-83.
5. Tsubota K, Yokoi N, Shimazaki J, i sur. New perspectives on dry eye definition and diagnosis: a consensus report by the Asia dry eye society. *Ocul Surf.* 2017;15(1):65-76.
6. Lemp MA. Report of the National eye institute/industry workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J.* 1995;21(4):221-32.
7. Marquardt R, Stodtmeister R, Christ T. Modification of tear film break-up time test for increased reliability. U: Holly FJ, ur. *The Precorneal Tear Film in Health, Disease and Contact Lens Wear.* Lubbock: Dry Eye Institute; 1986. str. 57-63.
8. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. Effect of fluorescein instillation on the precorneal tear film stability. *Curr Eye Res.* 1985;4(1):9-12.
9. Lee JH, Kee CW. The significance of tear film break-up time in the diagnosis of dry eye syndrome. *Korean J Ophthalmol.* 1988;2(2):69-71.
10. Siak JJ, Tong L, Wong WL, i sur. Prevalence and risk factors of meibomian gland dysfunction: the Singapore Malay eye study. *Cornea.* 2012;31(11):1223-8.
11. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, i sur. TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):539-74.
12. Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, i sur. TFOS DEWS II tear film report. *Ocul Surf.* 2017; 15(3): 366–403
13. Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: a review. *Exp Eye Res.* 2013;117:27–38.
14. Petriček I. Važnost lipidnog sloja suznog filma i načini njegove dijagnostike. *Medix.* 2011;94:130–4.
15. Petriček I. Handheld tear film lipid layer thickness and non invasive tear break up time assessment tool. *J Clin Ophthalmol Eye Disord.* 2017;1(2):1009.

16. American Academy of Ophthalmology. Clinical approach to ocular surface disorders. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: External Disease and Cornea. sv. 8. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 37-83.
17. American Academy of Ophthalmology. Structure and function of the external eye and cornea. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: External Disease and Cornea. sv. 8. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 3-11.
18. Dilly PN. Structure and function of the tear film. *Adv Exp Med Biol.* 1994;350:239-47.
19. Werkmeister RM, Alex A, Kaya S, i sur. Measurement of tear film thickness using ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(8):5578-83.
20. Aranha Dos Santos V, Schmetterer L, Gröschl M, i sur. In vivo tear film thickness measurements and tear film dynamics visualization using spectral domain optical coherence tomography. *Opt Express.* 2015;23(16):21043-63.
21. Wolff E. The muco-cutaneous junction of the lid margin and the distribution of the tear fluid. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1946;66:291-308.
22. Cher I. A new look at lubrication of the ocular surface: fluid mechanics behind the blinking eyelids. *Ocul Surf.* 2008;6(2):79-86.
23. 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.
24. Tiffany JM. The lipid secretion of the meibomian glands. *Adv Lipid Res.* 1987;22:1-62.
25. Petriček I. Utjecaj suznoga filma na vidnu funkciju [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2011.
26. Guillon JP. Non-invasive Tearscope plus routine for contact lens fitting. *Cont Lens Anterior Eye.* 1998;21(Suppl. 1):31-40.
27. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, i sur. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):438-510.
28. Sullivan DA, Rocha EM, Aragona P, i sur. TFOS DEWS II sex, gender, and hormones report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):274-333.
29. Van Haeringen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol.* 1981;26(2):84-96.
30. Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol.* 1965;73:233-41.

31. American Academy of Ophthalmology. Development, anatomy, and physiology of the lacrimal secretory and drainage systems. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: Orbit, Eyelids, and Lacrimal System. sv. 7. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. Str. 243-248.
32. Green-Church KB, Nichols KK, Kleinholz NM, Zhang L, Nichols JJ. Investigation of the human tear film proteome using multiple proteomic approaches. *Mol Vis*. 2008;14:456-70.
33. Chen L, Zhou L, Chan EC, Neo J, Beuerman RW. Characterization of the human tear metabolome by LC-MS/MS. *J Proteom Res*. 2011;10(10):4876-82.
34. Corfield AP. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1850(1):236-52.
35. Brewitt H. Diagnostik und therapie des 'trockenen Auges'. *Z Prakt Augenheilkd*. 1995;16:349-54.
36. Buehren T, Lee BJ, Collins MJ, Iskander DR. Ocular microfluctuations and videokeratoscopy. *Cornea*. 2002; 21(4):346-351.
37. Nagyova B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res*. 1999;19(1); 4-11.
38. Lemp MA, Hamill JR. Factors affecting tear film break-up in normal eyes. *Arch Ophthalmol*. 1973;89(2):103-5.
39. Holly FJ. Formation and rupture of the tear film. *Exp Eye Res*. 1973;15(5):515-25.
40. Patel S, Murray D, McKenzie A, Shearer DS, McGrath BD. Effects of fluorescein on tear breakup time and on tear thinning time. *Am J Optom Physiol Opt*. 1985;62(3):188-90.
41. Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, Milliner SE. Changes in human meibum lipid composition with age using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(1):475-82.
42. Guillon M, Maissa C. Tear film evaporation—effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye*. 2010;33(4):171-5.
43. González-García MJ1, González-Sáiz A, de la Fuente B, i sur. Exposure to a controlled adverse environment impairs the ocular surface of subjects with minimally symptomatic dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(9):4026-32.
44. Ousler GW, Gomes PJ, Welch D, Abelson MB. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf*. 2005;3(3):143-54.
45. Altinors DD, Akça S, Akova YA, i sur. Smoking associated with damage to the lipid layer of the ocular surface. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(6):1016-1021.

46. Ferrer-Blasco T, García-Lázaro S, Montés-Micó R, Cerviño A, González-Méijome JM. Dynamic changes in the air-tear film interface modulation transfer function. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010;248(1):127-32.
47. Jansen ME, Begley CG, Himebaugh NH, Port NL. Effect of contact lens wear and a near task on tear film break-up. *Optom Vis Sci*. 2011;87(5):350-7.
48. Masmali AM, Al-Qhtani S, Al-Gasham TM, El-Hiti GA, Purslow C, Murphy PJ. Application of a new grading scale for tear ferning in non-dry eye and dry eye subjects. *Cont Lens Anterior Eye*. 2015;38(1):39-43.
49. Norn MS. Tear fluid pH in normals, contact lens wearers, and pathological cases. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1988;66(5):485-9.
50. Khurana AK, Chaudhary R, Ahluwalia BK, Gupta S. Tear film profile in dry eye. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1991;69(1):79-86.
51. Murube J, Benítez del Castillo JM, Chenzhuo L, Berta A, Rolando M. The Madrid triple classification of dry eye. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2003;78(11):587-94.
52. Tsubota K, Yamada M. Tear evaporation from the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33(10):2942-50.
53. Trees GR, Tomlinson A. Effect of artificial tear solutions and saline on tear film evaporation. *Optom Vis Sci*. 1990;67(12):886-90.
54. American Academy of Ophthalmology. The eye. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: Fundamentals and Principles of Ophthalmology. sv. 2. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 37-78.
55. Mishima S, Gasset A, Klyce SD Jr, Baum JL. Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol*. 1966;5(3):264-76.
56. American Academy of Ophthalmology. Abnormalities of the lacrimal secretory and drainage systems. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: Orbit, Eyelids, and Lacrimal System. sv 7. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. str. 249-278.
57. The epidemiology of dry eye disease: report of the epidemiology subcommittee of the international dry eye workshop. *Ocul Surf*. 2007;5(2):93-107.
58. Schirmer O. Studien zur physiologie und pathologie der tranenabsonderung und tranenabfuhr. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1903;56:197-291.
59. Sjögren H. Zur Kenntnis der Keratoconjunctivitis sicca (Keratitis filiformis bei hypofunktion der Tranendrüsen). *Acta Ophthalmol (Kbh)*. 1933;11:1.
60. Behrens A1, Doyle JJ, Stern L, i sur. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea*. 2006;25(8):900-7.

61. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, i sur. American college of rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's international collaborative clinical alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(4):475-87.
62. Jie Y, Xu L, Wu YY, Jonas JB. Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing eye study. *Eye (Lond)*. 2009;23(3):688-93.
63. Tian YJ, Liu Y, Zou HD, i sur. Epidemiologic study of dry eye in populations equal or over 20 years old in Jiangning District of Shanghai. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2009;45(6):486-91.
64. Guo B, Lu P, Chen X, Zhang W, Chen R. Prevalence of dry eye disease in Mongolians at high altitude in China: the Henan eye study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2010;17(4):234-41.
65. Han SB, Hyon JY, Woo SJ, Lee JJ, Kim TH, Kim KW. Prevalence of dry eye disease in an elderly Korean population. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(5):633-8.
66. Viso E, Rodriguez-Ares MT, Gude F. Prevalence of and associated factors for dry eye in a Spanish adult population (the Salnes eye study). *Ophthalmic Epidemiol*. 2009;16(1):15-21.
67. Paulsen AJ, Cruickshanks KJ, Fischer ME, i sur. Dry eye in the beaver dam offspring study: prevalence, risk factors, and health-related quality of life. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(4):799-806.
68. Vehof J, Kozareva D, Hysi PG, Hammond CJ. Prevalence and risk factors of dry eye disease in a British female cohort. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(12):1712-17.
69. Hashemi H, Khabazkhoob M, Kheirkhah A, i sur. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014;42(3):242-8.
70. Malet F, Le Goff M, Colin J, i sur. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor study. *Acta Ophthalmol*. 2014;92(6):429-36.
71. Uchino M, Dogru M, Yagi Y, i sur. The features of dry eye disease in a Japanese elderly population. *Optom Vis Sci*. 2006;83(11):797-802.
72. Moss SE, Klein R, Klein BE. Long-term incidence of dry eye in an older population. *Optom Vis Sci*. 2008;85(8):668-74.
73. Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea*. 1996;15(3):229-34.
74. Abelson MB, Holly FJ. A tentative mechanism for inferior punctate keratopathy. *Am J Ophthalmol*. 1977;83(6):866-9.
75. Holly FJ. Diagnosis and treatment of dry eye syndrome. *Cont Lens Spectr*. 1989;4(7):37.

76. McMonnies CW, Ho A. Patient history in screening for dry eye conditions. *J Am Optom Assoc.* 1987;58(4):296-301.
77. Norn MS. Diagnosis of dry eye. U *The Dry Eye. A Comprehensive Guide.* Berlin, Springer-Verlag; 1992, 165-169.
78. Guillon JP. Current clinical techniques to study the tear film and tear secretions. U *The Tear Film, structure, function and clinical examination.* Butterworth-Heinemann; 2002, 51-81.
79. Begley CG<sup>1</sup>, Chalmers RL, Abetz L, i sur. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(11):4753-61.
80. Nichols KK, Nichols JJ, Mitchell GL. The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease. *Cornea.* 2004;23(8):762-70.
81. Mizuno Y, Yamada M, Miyake Y. Association between clinical diagnostic tests and health-related quality of life surveys in patients with dry eye syndrome. *Jpn J Ophthalmol.* 2010;54(4):259-65.
82. Sullivan BD<sup>1</sup>, Whitmer D, Nichols KK, i sur. An objective approach to dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(12):6125-30.
83. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the ocular surface disease index. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(5):615-21.
84. 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.
85. Rajagopalan K, Abetz L, Mertzanis P, i sur. Comparing the discriminative validity of two generic and one disease-specific health-related quality of life measures in a sample of patients with dry eye. *Value Health.* 2005;8(2):168-74.
86. Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. Performance and repeatability of the NEI-VFQ-25 in patients with dry eye. *Cornea.* 2002;21(6):578-83.
87. Sakane Y, Yamaguchi M, Yokoi N, i sur. Development and validation of the dry eye-related quality-of-life score questionnaire. *JAMA Ophthalmol.* 2013;131(10):1331-8.
88. Gonzalez-Perez M, Susi R, Antona B, Barrio A, Gonzalez E. The computer-vision symptom scale (CVSS17): development and initial validation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(7):4504-11.
89. Definition and classification of dry eye. Report of the diagnosis and classification subcommittee of the dry eye workshop (DEWS). *Ocul Surf.* 2007;5:75-92.

90. Schein OD, Tielsch JM, Munõz B, Bandeen-Roche K, West S. Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology*. 1997;104(9):1395-401.
91. Albarrán C1, Pons AM, Lorente A, Montés R, Artigas JM. Influence of the tear film on optical quality of the eye . *Cont Lens Anterior Eye*. 1997;20(4):129-35.
92. Ridder WH 3rd, Tomlinson A, Huang JF, Li J. Impaired visual performance in patients with dry eye. *Ocul Surf*. 2011;9(1):42-55.
93. Montés-Micó R, Alió JL, Charman WN. Postblink changes in the ocular modulation transfer function measured by a double-pass method. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(12):4468-73.
94. Miljanovic B, Dana R, Sullivan DA, Schaumberg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol*. 2007;143(3):409-15.
95. Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol*. 2002;133(2):181-6.
96. Ishida R, Kojima T, Dogru M, i sur. The application of a new continuous functional visual acuity measurement system in dry eye syndromes. *Am J Ophthalmol*. 2005;139(2):253-8.
97. Messmer EM. The Pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. *Dtsch Arztebl Int*. 2015;112(5):71-81.
98. Korb DR, Blackie CA. Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea*. 2008;27(10):1142-7.
99. Milner MS, Beckman KA, Luchs JI, i sur. Dysfunctional tear syndrome: dry eye disease and associated tear film disorders - new strategies for diagnosis and treatment. *Curr Opin Ophthalmol*. 2017;27(1):3-47.
100. 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.
101. Chew CK, Jansweijer C, Tiffany JM, Dikstein S, Bron AJ. An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the meibometer. *Curr Eye Res*. 1993;12(3):247-54.
102. Höh H, Schirra F, Kienecker C, Ruprecht KW. [Lid-parallel conjunctival folds are a sure diagnostic sign of dry eye]. *Ophthalmologe*. 1995;92(6):802-8.
103. Németh J, Fodor E, Lang Z, i sur. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(11):1380-5.
104. American Academy of Ophthalmology. Examination techniques for the external eye and cornea. U: McGuire A, ur. Basic and Clinical Science Course (BCSC) 2014-2015: External Disease and Cornea. sv. 8. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2014. Str. 11-36.



105. Manning FJ, Wehrly SR, Foulks GN. Patient tolerance and ocular surface staining characteristics of lissamine green versus rose bengal. *Ophthalmology*. 1995;102(12):1953-7.
106. Korb DR, Herman JP, Finnemore VM, Exford JM, Blackie CA. An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining. *Eye Contact Lens*. 2008;34(1):61-4.
107. van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the sicca syndrome. *Arch Ophthalmol*. 1969;82(1):10-4.
108. 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.
109. Barr JT, Schechtman KB, Fink BA, i sur. Corneal scarring in the collaborative longitudinal evaluation of keratoconus (CLEK) study: baseline prevalence and repeatability of detection. *Cornea*. 1999;18(1):34-46.
110. Whitcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, i sur. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjogren's syndrome international registry. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(3):405-15.
111. Terry RL, Schnider CM, Holden BA, i sur. CCLRU standards for success of daily and extended wear contact lenses. *Optom Vis Sci*. 1993;70(3):234-43.
112. Altan-Yaycioglu R, Sizmaz S, Canan H, Coban-Karatas M. Optical coherence tomography for measuring the tear film meniscus: correlation with schirmer test and tear-film breakup time. *Curr Eye Res*. 2013;38(7):736-42.
113. Bandlitz S, Purslow C, Murphy PJ, Pult H, Bron AJ. A new portable digital meniscometer. *Optom Vis Sci*. 2014;9(1):1-8.
114. Abelson MB, Lamberts DW. Dry eye update. *Excer Med (Amsterdam)*. 1983;3:1-17.
115. Uchiyama E, Aronowicz JD, Butovich IA, McCulley JP. Increased evaporative rates in laboratory testing conditions simulating airplane cabin relative humidity: an important factor for dry eye syndrome. *Eye Contact Lens*. 2007;33(4):174-6.
116. Wojtowicz JC, McCulley JP. Assessment and impact of the time of day on aqueous tear evaporation in normal subjects. *Eye Contact Lens* 2009;35(3):117-9.
117. Versura P, Profazio V, Campos EC. Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Curr Eye Res*. 2010;35(7):553-64.
118. Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, Diaper C, McFadyen A. Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(10):4309-15
119. Nom MS. Desiccation of the precorneal film: I. corneal wetting-time. *Acta Ophthalmol*. 1969;47(4):865-80.

120. Smith J, Nichols KK, Baldwin EK. Current patterns in the use of diagnostic tests in dry eye evaluation. *Cornea*. 2008;27(6):656-62.
121. Korb DR. Survey of preferred tests for diagnosis of the tear film and dry eye. *Cornea*. 2000;19(4):483-6.
122. Lemp MA, Dohlman CH, Holly FJ. Corneal dessication despite normal tear volume. *Ann Ophthalmol* 1970;2:258-284.
123. Abelson R, Lane KJ, Rodriguez J, i sur. A single-center study evaluating the effect of the controlled adverse environment (CAE(SM)) model on tear film stability. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:1865-72.
124. Ibrahim OM1, Dogru M, Ward SK, i sur. The efficacy, sensitivity, and specificity of strip meniscometry in conjunction with tear function tests in the assessment of tear meniscus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(5):2194-8.
125. Korb DR, Greiner JV, Herman J. Comparison of fluorescein break-up time measurement reproducibility using standard fluorescein strips versus the dry eye test (DET) method. *Cornea*. 2001;20(8):811-5.
126. Pult H, Riede-Pult BH. A new modified fluorescein strip: its repeatability and usefulness in tear film break-up time analysis. *Cont Lens Anterior Eye*. 2012;35(1):35-8.
127. Korb DR. The tear film - its role today and in the future. U: Korb DR, ur. *The Tear Film, structure, function and clinical examination*. Boston: Butterworth-Heinemann; 2002. Str. 136.
128. Cho P, Leung L, Lam A, Choi A. Tear break-up time: clinical procedures and their effects. *Ophthalmol Physiol Opt*. 1998;18(4):319-24.
129. Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea*. 2004;23(3):272-85.
130. Sullivan BD, Crews LA, Sönmez B, i sur. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea*. 2012;31(9):1000-8.
131. Cebreiro E, Ramos L, Mosquera A, Barreira N, Penedo MFG. Automation of the tear film break-up time test. *Eur J Ophthalmol*. 2012;22(7):17-23.
132. Herrera JE, Lim-Bon-Siong R. A prototype xeroscope for the noninvasive measurement of tear-breakup time. *Philipp J Ophthalmol*. 2007; 2(32):70-75.
133. Farrell J, Grierson DJ, Patel S, Sturrock RD. A classification for dry eyes following comparison of tear thinning time with Schirmer tear test. *Acta Ophthalmol*. 1992;70(3):357-60.
134. Little SA, Bruce AS. Repeatability of the phenol-red thread and tear thinning time tests for tear film function. *Clin Exp Optom*. 1994;77:64-8.

135. Hirji N, Patel S, Callander M. Human tear film pre-rupture phase time (TP-RPT) - a non-invasive technique for evaluating the pre-corneal tear film using a novel keratometer mire. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1989;9(2):139-42.
136. Mengher LS, Bron AJ, Tonge SR, Gilbert DJ. A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Curr Eye Res.* 1985 4(1):1-7.
137. Madden RK, Paugh JR, Wang C. Comparative study of two non-invasive tear film stability techniques. *Curr Eye Res.* 1994;13(4):263-9.
138. Kim S, Park Y, Na KS, Kim HS. A pilot study of changes in tear film short-term dynamics with infrared imaging after phacoemulsification. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2017;58(4):395-400.
139. Goto T, Zheng X, Okamoto S, Ohashi Y. Tear film stability analysis system: introducing a new application for videokeratoscopy. *Cornea.* 2004;23(8):65-70.
140. Benedetto DA, Clinch TE, Laibson PR. In vivo observation of tear dynamics using fluorophotometry. *Arch. Ophthalmol.* 1984;102(3):410-2.
141. Gumus K, Crockett CH, Rao K, i sur. Noninvasive assessment of tear stability with the tear stability analysis system in tear dysfunction patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(1):456-61.
142. Goto T, Zheng X, Klyce SD, i sur. A new method for tear film stability analysis using videokeratography. *Am J Ophthalmol.* 2003;135(5):607-12.
143. Kojima T1, Ishida R, Dogru M, i sur. A new noninvasive tear stability analysis system for the assessment of dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(5):1369-74.
144. Hong J, Sun X, Wei A, i sur. Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea.* 2013;32(5):716-721.
145. Koh S, Ikeda C, Fujimoto H, i sur. Regional differences in tear film stability and meibomian glands in patients with aqueous-deficient dry eye. *Eye Contact Lens.* 2016;42(4):250-5.
146. Alonso-Caneiro D, Iskander DR, Collins MJ. Assessment of tear film surface quality using dynamic-area high-speed videokeratoscopy. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2009;56(5):1473-81.
147. McDonald JE. Surface phenomena of tear films. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1968;66:905-39.
148. Norn MS. Semiquantitative interference study of fatty layer of precorneal film. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1979;57(5):766-74.
149. Guillon M, Styles E, Guillon JP, Maissa C. Preocular tear film characteristics of nonwearers and soft contact lens wearers. *Optom Vis Sci.* 1997;74(5):273-79.

150. Tearscope. Tearscope Plus Clinical Handbook and Tearscope Plus Instructions. Windsor, Keeler Ltd, Windsor, Berkshire; Keeler Insts Inc., Broomall, PA, 1997.
151. Markoulli M1, Duong TB1, Lin M1, Papas E1. Imaging the tear film: A comparison between the subjective Keeler Tearscope-Plus and the objective Oculus Keratograph 5M and LipiView interferometer. *Curr Eye Res.* 2018;43(2):155-62.
152. Nosch DS, Pult H, Albon J, Purslow C, Murphy PJ. Relationship between corneal sensation, blinking, and tear film quality. *Optom Vis Sci.* 2016;93(5):471-81.
153. Elliott M, Fandrich H, Simpson T, Fonn D. Analysis of the repeatability of tear break-up time measurement techniques on asymptomatic subjects before, during and after contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye.* 1998;21(4):98-103.
154. Finis D, Pischel N, Schrader S, Geerling G. Evaluation of lipid layer thickness measurement of the tear film as a diagnostic tool for meibomian gland dysfunction. *Cornea.* 2013;32(12):1549-53.
155. Szczesna DH, Iskander DR. Lateral shearing interferometry for analysis of tear film surface kinetics. *Optom Vis Sci.* 2010;87(7):513-7.
156. Abelson MB, Hollander D, Staff O. The hottest topics from ARVO 2016: a look at the latest research from multiple corners of ophthalmology, from gene therapy to dry eye. *Review of Ophthalmology.* 2016;23(7):46-51.
157. Su TY, Ho WT, Chang SW, Chiang HK. Thermographic evaluation of tear film break-up time to study tear film stability. *Int J Therm Sci.* 2016;99(4):36-40.
158. Sullivan BD1, Crews LA, Messmer EM, i sur. Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: clinical implications. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(2):161-6.
159. Zhang Y, Chen H, Wu X. Prevalence and risk factors associated with dry eye syndrome among senior high school students in a county of shandong province, China. *Ophthalmic Epidemiol.* 2012;19(4):226-30.
160. Uchino M, Dogru M, Uchino Y, i sur. Japan Ministry of health study on prevalence of dry eye disease among Japanese high school students. *Am J Ophthalmol.* 2008;146(6):925-9.
161. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol.* 2003;136(2):318-26.
162. Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, Sullivan DA. Prevalence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' health studies. *Arch Ophthalmol.* 2009;127(6):763-8.
163. Vanley GT, Leopold IH, Gregg TH. Interpretation of tear film breakup. *Arch Ophthalmol.* 1977;95(3):445-8

164. Goto E, Ishida R, Kaido M, i sur. Optical aberrations and visual disturbances associated with dry eye. *Ocul Surf.* 2006;4(4):207-13.
165. Downie LE. Automated tear film surface quality breakup time as a novel clinical marker for tear hyperosmolarity in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(12):7260-8.
166. Tonge SR, Hunsaker J, Holly FJ. Non-invasive assessment of tear film break-up time in a group of normal subjects- implications for contact lens wear. *J Br Cont Lens Assoc.* 1991;14:201-5.
167. Nichols JJ1, Nichols KK, Puent B, Saracino M, Mitchell GL. Evaluation of tear film interference patterns and measures of tear break-up time. *Optom Vis Sci.* 2002;79(6):363-9.
168. Best N1, Drury L, Wolffsohn JS. Clinical evaluation of the Oculus Keratograph. *Cont Lens Anterior Eye.* 2012;35(4):171-4.
169. Gao Y1, Zhang Y2, Ru YS2, i sur. Ocular surface changes in type II diabetic patients with proliferative diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol.* 2015;8(2):358-64.
170. Menzies KL1, Srinivasan S1, Prokopich CL2, Jones L1. Infrared imaging of meibomian glands and evaluation of the lipid layer in Sjögren's syndrome patients and non dry eye controls. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(2):836-41.
171. Sharanjeet-Kaur1, Ho CY2, Mutalib HA2, Ghazali AR2. The relationship between tear ferning patterns and non-invasive tear break-up time in normal Asian population. *J Optom.* 2016;9(3):175-81.
172. Kallarackal GU1, Ansari EA, Amos N, Martin JC, Lane C, Camilleri JP. A comparative study to assess the clinical use of fluorescein meniscus time (FMT) with tear break up time (TBUT) and Schirmer's tests (ST) in the diagnosis of dry eyes. *Eye (Lond).* 2002;16(5):594-600.
173. Pflugfelder SC1, Tseng SC, Sanabria O, i sur. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea.* 1998;17(1):38-56.
174. Cho P1, Brown B, Chan I, Conway R, Yap M. Reliability of the tear break-up time technique of assessing tear stability and the locations of the tear break-up in Hong Kong Chinese. *Optom Vis Sci.* 1992;69(11):879-85.
175. Kumar P, Bhargava R, Kumar M, Ranjan S, Kumar M, Verma P. The correlation of routine tear function tests and conjunctival impression cytology in dry eye syndrome. *Korean J Ophthalmol.* 2014;28(2):122-9.
176. Kurtul BE, Özer PA, Aydinli MS. The association of vitamin D deficiency with tear break-up time and Schirmer testing in non-Sjögren dry eye. *Eye (Lond).* 2015;29(8):1081-4.

177. Asharlous A1, Jafarzadehpur E, Mirzajani A, Khabazkhoob M. Comparing tear film stability prolongation evaluated by Javal-Schiotz keratometer and slitlamp. *Eye Contact Lens*. 2015;41(2):101-6.
178. Cho P1, Brown B. Review of the tear break-up time and a closer look at the tear break-up time of Hong Kong Chinese. *Optom Vis Sci*. 1993;70(1):30-8.
179. Mooi JK, Wang MTM, Lim J, Müller A, Craig JP. Minimising instilled volume reduces the impact of fluorescein on clinical measurements of tear film stability. *Cont Lens Anterior Eye*. 2017;40(3):170-174.
180. Marsters E, Ousler GW, Schindelar MR, Abelson MB. A correlation between tear film break-up patterns (TFBUP) and the Schirmer's test. *IOVS 2006*;47:ARVO E-Abstract 277.
181. Craig JP1, Tomlinson A. Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation. *Optom Vis Sci*. 1997;74(1):8-13
182. Pult H1, Purslow C, Murphy PJ. The relationship between clinical signs and dry eye symptoms. *Eye (Lond)* 2011;25(4):502-10.

## 11. KRATKA BIOGRAFIJA

Rođena je 9. svibnja 1985. godine u Zadru. Osnovnoškolsko i srednjoškolsko obrazovanje završila je u Novalji i Pazinu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2009. godine. Pripravnički staž odradila je u KB *Sveti Duh*. Nakon završetka staža radila je kao liječnik obiteljske medicine u Domu zdravlja Zagreb – Zapad. Godine 2012. započinje specijalizaciju iz oftalmologije i optometrije u Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb te postaje član eksplantacijskog tima. Iste godine upisuje poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2014. upisuje i završava poslijediplomski specijalistički studij Oftalmologija i optometrija pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2017. završava specijalizaciju iz oftalmologije i optometrije na Klinici za očne bolesti KBC-a Zagreb te postaje član Europskog društva za oftalmologiju (engl. *Fellow of European Board of Ophthalmology*; FEBO). Od 2012. godine aktivno sudjeluje na kongresima Hrvatskoga oftalmološkog društva, Hrvatskog društva za kataraktu i refraktivnu kirurgiju te Slovenskoga oftalmološkog društva. Godine 2016. prisustvuje edukaciji iz glaukoma pri Europskome glaukopskom društvu. Od 2014. do 2017. godine kao član studijskog tima sudjeluje u dvjema multicentričnim randomiziranim studijima, TREND i RTH258-C002. Do sada je objavila pet stručnih radova u međunarodno citiranim časopisima te je koautorica u dvjema stručnim knjigama iz područja oftalmologije.

# PRILOZI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

ETIČKO POVJERENSTVO

## Obavijest za ispitanike

Poštovani/poštovana,

pozivamo Vas da u svojstvu ispitanika sudjelujete u znanstvenom istraživanju čiji je glavni cilj istražiti mogućnost mjerenja neinvazivnog testa pucanja suznog filma (Non-invasive tear break-up time; NIBUT) promatranjem površinskog lipidnog sloja suza ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma sa svrhom uvođenja ovako mjerenoga NIBUT-a u svakodnevnu kliničku praksu. To istraživanje provodi se u sklopu znanstvenog projekta ***Mjerenje neinvazivnog testa pucanja suznog filma (engl. Non-invasive tear break-up time; NIBUT) ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma***. Voditelj projekta je Sania Vidas, dr. med., a predviđeno trajanje projekta je od 6 do 8 mjeseci. Projekt se provodi u sljedećim ustanovama: Klinika za očne bolesti te Oftalmološka poliklinika KBC-a Zagreb, a financirat će ga ispitivač (Sania Vidas, dr. med.). Vaše sudjelovanje u istraživanju treba se temeljiti na jasnu razumijevanju ciljeva istraživanja te načina i postupaka za njegovo provođenje kao i mogućih koristi ili rizika za Vas kao ispitanika. Stoga Vas molimo da, prije donošenja odluke, pažljivo pročitate i proučite ovu obavijest, a ako u njoj naiđete na bilo kakve nejasnoće ili nepoznate riječi i izraze da o tome pitate istraživača i liječnike koji sudjeluju u istraživanju te su Vam dužni i spremni odgovoriti na svako pitanje.

### OPIS KLJUČNOG PROBLEMA I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Stabilnost suznog filma glavni je pokazatelj njegove (dis)funkcije. Trenutno važeća standardna metoda, prihvaćena u procjeni njegove stabilnosti, invazivni je test pucanja suznog filma (engl. Tear film break-up time; TBUT) koja za provođenje zahtijeva kapanje fluoresceinske otopine u oko te time mijenja fiziologiju suznog filma u nativnom stanju.

S druge strane, metoda kompatibilna TBUT-u, neinvazivni test pucanja suznog filma (engl. Non-invasive tear break-up time; NIBUT) metoda je kojom putem refleksije slike mrežice projicirane uređajem na površini rožnice, točnije trenutka pojave nepravilnosti u slici, mjerimo vrijeme pucanja suznog filma. Njezina je prednost neinvazivnost, tj. uvid u stvarno fiziološko stanje suznog filma i procjenu njegove funkcije. Ova metoda zahtijeva opremu (Tearscope, Keratograf), kompliciranu i često nedostupnu za svakodnevnu primjenu zbog čega nije našla mjesta u rutinskom kliničkom radu.

Stoga je u ovom istraživanju temeljna znanstvena pretpostavka (hipoteza) istraživača da se neinvazivno vrijeme pucanja suznog filma (NIBUT) može mjeriti



korištenjem ručnog instrumenta za pregled debljine lipidnog sloja suza, mjereći vrijeme koje je proteklo od otvaranja oka pa do vizualizacije pukotina na površini suznog filma.

## CILJ I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Cilj ovoga istraživanja je ispitati mogućnost mjerenja NIBUT-a promatranjem površinskog lipidnog sloja suza jednostavnijim, praktičnijim i dostupnijim ručnim instrumentom za procjenu debljine lipidnog sloja suznog filma, te dobivene vrijednosti usporediti s vrijednostima standardnoga rutinskog testa procjene stabilnosti suznog filma, tj. TBUT, sa svrhom uvođenja ovako mjenenoga NIBUT-a u svakodnevnu kliničku praksu.

## ULOGA VAS KAO ISPITANIKA U ISTRAŽIVANJU

Vaša uloga u ovome istraživanju sastojala bi se od sljedećeg:  
Na samom početku standardnoga rutinskog pregleda na procijepnoj svjetiljci ispitivač (Sania Vidas, dr. med.) će Vam izmjeriti neinvazivni test pucanja suznog filma (NIBUT). Pomoću procijepne svjetiljke i izvora difuznoga bijelog svjetla ručnog instrumenta sa strane će osvijetliti Vaše oko, tj. lipidni sloj i vizualizirati površinu suznog filma. Vi ćete biti zamoljeni da ne trepćete, a ispitivač (Sania Vidas, dr. med.) će putem štoperice mjeriti vrijeme unutar kojeg dolazi do pucanja suznog filma na površini rožnice. Postupak će se ponoviti tri puta zaredom za svako oko. Nakon toga isti postupak ponavlja se nakon kapanja 1 kapi 1-postotne otopine fluoresceina najprije u jedno pa u drugo oko, te se na taj način mjeri TBUT.

## KOJE SU ZA VAS MOGUĆE PREDNOSTI I KORISTI OD SUDJELOVANJA?

Veoma često pacijenti se javljaju oftalmologu zbog dugotrajnih, vrlo neugodnih subjektivnih smetnji suhog oka često praćenih zamucenjem vida, posebice nakon duljeg čitanja, rada na računalu ili gledanja TV-a. Pri tomu često navode prethodnu uporabu raznih kapi za oko, koje nisu dovele do očekivanog poboljšanja, a propisivali su ih razni liječnici. Ako ste i Vi takav pacijent, rezultat ovakvog testiranja omogućit će nam da na neinvazivan način dobijemo podatke o fiziologiji Vašega suznog filma, njegovoj stabilnosti i (dis)funkciji u svrhu pronalaska što boljeg rješenja za Vaš problem suhog oka.

## KOJI SU MOGUĆI RIZICI SUDJELOVANJA U ISTRAŽIVANJU?

Opisana metoda mjerenja neinvazivnog testa pucanja suznog filma posve je bezbolna i bezopasna. U oko se ne kapaju nikakve kapi niti se oko uopće dotiče tijekom pretrage. Sve ostale pretrage, koje će uslijediti nakon navedenog mjerenja, standardne su oftalmološke pretrage.

## POSTOJE LI DRUGI LIJEKOVI, DRUGE DIJAGNOSTIČKE METODE ILI DRUGI OPERATIVNI PRISTUPI?

Tearscope je jedini standardizirani uređaj koji se koristi za mjerenje NIBUT-a. Metoda se izvodi neinvazivno, ne zahtijeva kapanje kapi u oko. Tearscope se postavlja ispred objektiva procijepne svjetiljke. Uređaj koristi okruglu fluorescentnu žarulju kroz čiji se otvor promatra površina oka, ravnomjerno i difuzno osvijetljena bijelim svjetlom te projicira sliku mrežice na površinu oka. Prednost Tearscopea je da osvjetljava veliki dio površine oka, što omogućuje dinamičku procjenu funkcije lipidnog sloja suza. Budući da se radi o dosta kompliciranu uređaju, nedostupnu i

nepraktičnu za svakodnevnu uporabu, njegova je proizvodnja obustavljena, a navedena metoda nikada nije našla mjesto u rutinskoj primjeni.

#### MORATE LI SUDJELOVATI U ISTRAŽIVANJU?

Sudjelovanje u istraživanju je dobrovoljno. Ako odlučite sudjelovati, dobit ćete na potpis ovu obavijest (jedan primjerak zadržite). Možete se slobodno i bez ikakvih posljedica povući iz istraživanja u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga. To neće nimalo utjecati na Vaš odnos s Vašim liječnikom/ispitivačem, kao ni na način liječenja Vaše bolesti. Ako odlučite prekinuti sudjelovanje, molimo da o tome na vrijeme obavijestite svojeg liječnika.

#### POVJERLJIVOST I PRAVO UVIDA U DOKUMENTACIJU

Svi Vaši osobni podatci bit će pohranjeni i obrađivani u elektroničkom obliku, a voditelj projekta i njegovi suradnici dužni su u potpunosti poštivati propisane postupke za zaštitu osobnih podataka. U naše baze podataka Vi ćete biti uneseni prema inicijalima imena i prezimena i pomoću posebnog koda. Vašu medicinsku dokumentaciju pregledavat će samo voditelj projekta i njegovi suradnici, a Vaše ime nikada neće biti otkriveno trećim osobama. Pristup Vašoj dokumentaciji mogu imati i predstavnici Etičkog povjerenstva u ustanovi u kojoj se liječite (lokalno etičko povjerenstvo) te predstavnici Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta, koje je odgovorno za odobravanje i nadzor nad provođenjem ovog istraživanja.

#### ZA ŠTO ĆE SE KORISTITI PODATCI DOBIVENI U OVOM ZNANSTVENOM ISTRAŽIVANJU?

Podatci dobiveni u ovom istraživanju poslužit će za izradu doktorskog rada Sanie Vidas, dr. med. Rezultati će biti objavljeni u časopisima namijenjenim liječnicima, ali i općem čitateljstvu, budući da je ova problematika neprepoznata, a od općeg je interesa. Na temelju rezultata istraživanja oftalmolozi će postati svjesniji važnosti ovakvog načina dijagnostike bolesti suhog oka, a pacijenti važnosti liječenja suhoga oka radi poboljšavanja njihovih poteškoća.

#### TKO JE ODOBRILO OVO ISTRAŽIVANJE?

Ovo istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te Etičko povjerenstvo KBC-a Zagreb, nakon temeljite analize dostavljenog prijedloga istraživanja i prateće dokumentacije. Istraživanje se provodi u skladu sa svim primjenljivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje istraživanja te sigurnost osoba koje u njemu sudjeluju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju.

#### KOGA MOŽETE KONTAKTIRATI ZA DODATNE OBAVIJESTI I UPITE?

Ako su Vam potrebne bilo kakve dodatne informacije ili imate dodatnih pitanja, slobodno se obratite voditelju projekta ili njegovim suradnicima, kako slijedi:

Sania Vidas, dr. med  
Klinika za očne bolesti  
KBC Zagreb  
Kišpatičeva 12, HR-10 000 Zagreb  
Tel.: 2388-142

## TKO ĆE JOŠ BITI OBAVIJEŠTEN O OVOM ISTRAŽIVANJU?

O Vašem sudjelovanju u ovom znanstvenom istraživanju bit će obaviješten i Vaš obiteljski liječnik (ako je riječ o ispitaniku koji je psihijatrijski pacijent, obavijest o sudjelovanju mora dobiti i odrasli član obitelji).

## O VAŠOJ PISANOJ SUGLASNOSTI ZA SUDJELOVANJE U OVOM ISTRAŽIVANJU

Presliku dokumenta (potpisne stranice) koju trebate potpisati ako pristajete sudjelovati u ovom istraživanju, dobit ćete Vi i voditelj istraživanja. Izvorni primjerak dokumenta zadržat će i čuvati voditelj istraživanja.

Hvala Vam što ste pročitali ovaj dokument i razmotrili mogućnost Vašeg sudjelovanja u ovom znanstvenom istraživanju.

Ova obavijest sastavljena je u skladu s odredbama Zakona o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakona o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04).

Potpis glavnog istraživača

---

Sania Vidas, dr. med.

## Suglasnost za sudjelovanje odraslog ispitanika u istraživanju

1. Potvrđujem da sam dana \_\_\_\_\_ (upisati dan/mjesec/godinu) u \_\_\_\_\_ (upisati mjesto) pročitao/pročitala Obavijest za ispitanika za gore navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja.
2. Razumijem da je moje sudjelovanje dragovoljno i da se iz sudjelovanja u istraživanju mogu povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica za moje zdravstveno stanje ili pravni status.
3. Razumijem da mojoj medicinskoj dokumentaciji pristup imaju samo odgovorne osobe, to jest voditelj istraživanja i njegovi suradnici te članovi Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje obavlja i Etičkog povjerenstva koje je odobrilo ovo znanstveno istraživanje. Tim osobama dajem dopuštenje za pristup mojoj medicinskoj dokumentaciji.
4. Pristajem da moj obiteljski liječnik (odnosno član obitelji) bude upoznat s mojim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju.
5. Želim i pristajem sudjelovati u navedenom znanstvenom istraživanju.

Ime i prezime ispitanika (tiskano):

\_\_\_\_\_

Vlastoručni potpis:

\_\_\_\_\_

Mjesto i datum:

\_\_\_\_\_

Ime i prezime osobe koja je vodila postupak Obavijesti za ispitanika i Suglasnosti za sudjelovanje:

\_\_\_\_\_

Ime i prezime voditelja projekta (tiskano):

\_\_\_\_\_

Vlastoručni potpis:

\_\_\_\_\_

Mjesto i datum:

\_\_\_\_\_