



Artículo de revisión

# Biomarcadores en película lagrimal y su aplicación clínica

## Tear film biomarkers and its clinical application

## Biomarcadores de filme lacrimal e sua aplicação clínica

Recibido: 05 | 12 | 2019

Aprobado: 01 | 04 | 2020


Publicado: 30 | 06 | 2020

DOI: <https://doi.org/10.18270/rsb.v10i1.2787>

**How to cite:**

Durán S, Gómez-Molina A. Biomarcadores en película lagrimal y su aplicación clínica. *Rev. salud. bosque.* 2020;10(1): Págs. 53-63. DOI: <https://doi.org/10.18270/rsb.v10i1.2787>

**Sandra Durán**

 [orcid.org/0000-0002-5366-8552](https://orcid.org/0000-0002-5366-8552)

Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de la Salle, Bogotá D.C., Colombia.

**Correspondencia:**

Sandra Durán. Correo electrónico: [sduran@unisalle.edu.co](mailto:sduran@unisalle.edu.co).

## Resumen

El fluido lagrimal se caracteriza por ser una mezcla de moléculas que incluye proteínas, lípidos, metabolitos, entre otros; estas moléculas juegan un papel importante en la fisiopatología de distintas enfermedades, por lo cual las lágrimas han sido de gran interés para la comunidad científica en la búsqueda de biomarcadores y en el desarrollo de estrategias terapéuticas para enfermedades sistémicas y oculares. La poca invasividad y el bajo riesgo al obtener la lágrima la convierten en una interesante muestra en comparación con algunos fluidos corporales que pueden ser mucho más costosos y molestos para su obtención. Lo anterior ha sido demostrado en diversos estudios que sugieren estrategias para obtener la muestra e indican un posterior análisis mediante avanzadas técnicas de biología molecular y celular, entre ellas los análisis ómicos, que han logrado una mejor caracterización lagrimal.

Los análisis ómicos han contribuido en la identificación diferencial de distintas moléculas que pueden desempeñar un papel importante en el diagnóstico, seguimiento y/o tratamiento de enfermedades oculares y sistémicas. Por tanto, el propósito del presente artículo fue describir las diferentes características del fluido lagrimal, así como los posibles candidatos de biomarcadores de patologías oculares y sistémicas reportados.

**Palabras claves:** Lágrima; Biomarcador; Proteína; Epigenética; Superficie ocular.

## Abstract

The lacrimal fluid is characterized by a mixture of molecules from proteins, lipids, metabolites among others, which play an important role in the pathophysiology of different diseases, for which it has been of great interest in the scientific community for the search of biomarkers and development of therapeutic strategies in systemic and eye diseases. The lower invasiveness and risk when obtaining the tear, makes it an interesting sample compared to some bodily fluids that can be much more expensive and annoying to obtain. The above has been demonstrated through various studies in which they suggest different strategies to obtain the sample and its subsequent analysis using techniques of molecular and cellular biology among them advanced molecular technology such as those such as omic analyses, which have achieved a better lacrimal characterization. These analyses have contributed to the differential identification of different molecules that may play an important role in the diagnosis, monitoring and/or treatment of eye and systemic diseases. The purpose of this article is to describe the different characteristics of the tear fluid as well as the possible candidates for biomarkers of mainly reported eye and systemic pathologies.

**Keywords:** Tear; Biomarker; Protein; Epigenetic; Ocular Surface.

## Resumo

O líquido lacrimal é caracterizado por ser uma mistura de moléculas que inclui proteínas, lipídios, metabólitos, entre outros; Essas moléculas desempenham um papel importante na fisiopatologia de diferentes doenças, motivo pelo qual as lágrimas têm sido de grande interesse para a comunidade científica na busca de biomarcadores e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas para doenças sistêmicas e oculares. A baixa invasividade e o baixo risco de obter a lágrima fazem dela uma amostra interessante em comparação com alguns fluidos corporais que podem ser muito mais caros e problemáticos de obter. Isso foi demonstrado em vários estudos que sugerem estratégias para obter a amostra e indicar uma análise subsequente usando técnicas avançadas de biologia molecular e celular, incluindo análise ômica, que alcançaram melhor caracterização das lágrimas.

A análise ômica contribuiu para a identificação diferencial de diferentes moléculas que podem desempenhar um papel importante no diagnóstico, monitoramento e / ou tratamento de doenças oculares e sistêmicas. Portanto, o objetivo deste artigo foi descrever as diferentes características do líquido lacrimal, bem como os possíveis candidatos a biomarcadores de patologias oculares e sistêmicas relacionadas.

**Palavras-chave:** Lágrima; Biomarcador; Proteína; Epigenético; Superfície da ocular.

## Introducción

La superficie ocular está compuesta por un epitelio que recubre la córnea, la parte anterior del globo ocular y la conjuntiva bulbar y tarsal; los párpados; las pestañas; las glándulas lagrimales principal y accesorias, y las glándulas de Meibomio (1,2). Por su parte, la película lagrimal es una estructura húmeda de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  de espesor que cubre toda la superficie ocular y puede ser variable con la edad, disminuyendo con los años (3); está compuesta por 2 capas: lipídica y muco-acuosa, las cuales aportan reducción de la evaporación, función antimicrobiana, hidratación y adherencia. La película lagrimal puede alterarse por la constante exposición de la superficie ocular al ambiente, lo que da lugar a déficits cuantitativos y cualitativos de la lágrima (4,5).

A pesar de su pequeño volumen (7-10  $\mu\text{L}$ ), la lágrima hace parte de los fluidos biológicos corporales más complejos, pues está compuesta por una amplia gama de proteínas, péptidos, electrolitos, lípidos y metabolitos que necesitan un crucial equilibrio para garantizar una función fisiológica adecuada y para mantener la integridad biofísica de la película lagrimal. Las alteraciones en su equilibrio pueden manifestarse en diversas afecciones oculares como ojo seco, blefaritis, entre otras (6-9).

La lágrima es un fluido corporal transparente compuesto en un 98% por agua y en un 2% por distintas moléculas como proteínas, lípidos, electrolitos, metabolitos, etc. (10). Según el Subcomité de Fisiopatología del II Taller sobre Ojo Seco (DEWS II, por sus siglas en inglés), la película lagrimal desempeña un papel esencial en la superficie ocular, pues aporta lubricación, actúa como medio refringente y posee propiedades antimicrobianas (1). Sin embargo, este fluido puede verse afectado por distintos factores extrínsecos e intrínsecos, como uso constante de pantallas y dispositivos electrónicos, aire acondicionado, factores ambientales, cambios hormonales y uso de medicamentos, los cuales pueden desencadenar un sin número de lesiones que afectan los componentes de la unidad funcional lagrimal (11) y generan cambios en la homeostasis de la superficie ocular, lo que a su vez puede llevar a patologías como ojo seco, cuya prevalencia oscila entre el 6% y el 18%, aunque en algunos países orientales puede llegar al 33% (12,13).

De acuerdo a las características de las lágrimas, numerosos estudios han abordado el tema de biomarcadores tanto en enfermedades sistémicas como oculares mediante el análisis de la película lagrimal y han encontrado resultados interesantes en los que se sugiere

que este fluido es una nueva opción a analizar, no solo por la poca invasividad al momento de recolectar la muestra, sino también por su composición molecular y su similitud con el fluido del torrente sanguíneo, el cual puede brindar información relevante de procesos biológicos del organismo. Por lo tanto, la presente revisión tuvo como objetivo abordar aspectos importantes del fluido lagrimal, estudios de biomarcadores en este y su aplicación clínica, no solo en el área de la oftalmología y/o optometría, sino en la medicina en general.

## Metodología

Se realizó una búsqueda en artículos de investigación y fuentes de información sobre película lagrimal y técnicas en biología molecular en relación con hallazgos clínicos, biomarcadores y patologías sistémicas y oculares. Para esto se realizó un rastreo bibliográfico en las bases de datos Scopus y PubMed y en revistas científicas iberoamericanas indexadas en PubMed, SciELO, Dialnet, Medicine, Nature, ScienceDirect, Proquest, Cochrane y Elsevier usando términos controlados MeSH y DeCS, así como los términos libres “métodos de análisis lagrimal”, “biología molecular en lágrima”, “biomarcadores en lágrima”, “película lagrimal” y “análisis molecular en lágrima” mediante uso de operadores booleanos.

Se tuvieron en cuenta artículos con un historial de publicación de 20 años (1999-2019) debido a su contenido histórico implícito en el tema y se seleccionaron aquellos que informaran sobre métodos de análisis molecular en la lágrima y que estuvieran relacionados con patologías oculares y sistémicas, marcadores moleculares para el diagnóstico de dichas patologías o análisis comparativos de la expresión de proteínas en el fluido lagrimal.

## Resultados y discusión

### *Estudio del fluido lagrimal en biología molecular*

A pesar de presentar un volumen pequeño, la lágrima ofrece una valiosa información molecular, por lo cual durante décadas se han realizado análisis con el objetivo de identificar los genes, la expresión génica y la cuantificación de proteínas de este fluido mediante técnicas como la reacción en cadena de polimerasa (PCR, por su sigla en inglés), la PCR cuantitativa en tiempo real y ensayos para la detección de proteínas como la técnica western Blot, el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la inmunohistoquímica y la

inmunofluorescencia. De igual manera, los avances en biología molecular han permitido emplear análisis ómicos, marcadores inmunológicos, citometrías de flujo, microarreglos, entre otros, obteniendo datos interesantes de la composición molecular y sus modificaciones en condiciones de enfermedad, lo que consolida al fluido lagrimal como una fuente interesante de búsqueda de biomarcadores (9,14-16).

A pesar de los avances y la aplicación de técnicas en biología molecular en el estudio de la lágrima, aún hay mucha variación a la hora de hacer análisis en dicho fluido y en su modo de obtención. Por lo anterior, varias investigaciones sugieren métodos para obtener un volumen adecuado de lágrimas y apropiado para los análisis posteriores, bien sean génicos o proteicos (17,18). Cabe resaltar que gran parte de las investigaciones sugieren tomar la muestra lagrimal mediante prueba de Schirmer y luego realizar procesos de centrifugación para recuperar la muestra; en algunos casos se sugiere recolectar la lágrima mediante capilaridad, técnica donde se puede tomar directamente el fluido y realizar procesos posteriores como extracción de ácidos nucleicos y/o ensayos de ELISA directamente sobre la muestra (19-21).

La aplicación de la investigación básica en el estudio de diferentes enfermedades ha permitido entender la relevancia de los cambios genéticos y cómo estos pueden impactar en varias generaciones. En décadas pasadas se creía que pequeños fragmentos de ácido ribonucleico (ARN), también llamados ARN no codificantes, hacían parte del desecho o basura celular. Sin embargo, dentro de este grupo de moléculas se encuentran microARN (miARN), ARN interferentes (siARN) etc., que funcionan como mecanismo de regulación epigenética y que influyen en procesos importantes en la célula como la proliferación celular, la migración y la apoptosis (22)

El sistema visual y ocular no está excepto de los mecanismos de regulación epigenéticos que pueden afectar la expresión génica, pues de esta manera modula la respuesta inflamatoria, el estrés oxidativo, la respuesta neuronal, etc., que pueden llevar al desarrollo de patologías oculares, entre ellas ojo seco, queratocono y degeneración macular asociada a la edad (23).

### *Biomarcadores en fluido lagrimal*

La aplicación de varias técnicas moleculares en muestras de fluido lagrimal permitió caracterizar 491 proteínas; de igual modo, a mediados del siglo XXI se

identificaron más componentes de este fluido: albúminas; enzimas como la lisozima, lactoferrina, inmunoglobulinas A y G, y proteínas asociadas al complemento (24,25). Asimismo, en la actualidad se sabe que la lágrima también cuenta con una cantidad sustancial de electrolitos y coenzimas que tienen como función regular el flujo osmótico entre córnea y película lagrimal, y el bicarbonato que regula el pH de la lágrima (6.5 a 7.6) y otros electrolitos (25).

La composición molecular y celular de la lágrima ha sido estudiada durante décadas, con lo cual se ha podido establecer una mejor caracterización de las moléculas presentes en este fluido. Un claro ejemplo de lo anterior es la caracterización del proteoma lagrimal: a finales de los 2000 el análisis del fluido lagrimal por espectrometría permitió identificar más de 1.526 proteínas lagrimales relacionadas a distintas funciones celulares (26,27); de igual forma, mediante resonancia magnética nuclear (RMN) se logró identificar el lipidoma lagrimal (28) y la presencia de más de 100 metabolitos, lo que convierte a este fluido en una interesante muestra a la hora de buscar biomarcadores.

Cabe aclarar que la caracterización de la lágrima no solo ha correspondido a la identificación de proteínas presentes en este fluido (lisozima, lactoferrina, lipocalina-1, albumina, inmunoglobulina A), sino también de otras moléculas que tienen un rol importante en la lágrima y que participan en eventos fisiológicos tanto en la capa lipídica como en la capa mucinoacuosa, tal como se describe a continuación (1).

**Capa anterior lipídica:** es la capa más superficial y la encargada de mantenerse en contacto directo con el aire; tiene un espesor de entre 0,1 y 0,2  $\mu\text{m}$ ; se forma sobre la parte acuosa de la película lagrimal a partir de las secreciones oleosas de las glándulas de Meibomio y las glándulas sebáceas accesorias de Zeis y de Moll, y contiene ésteres de colesterol y de ceras, además de algunos lípidos polares. Al ser de naturaleza oleosa, forma una barrera a lo largo de los bordes palpebrales que retiene la lágrima y evita que se vierta sobre la piel. Esta capa cumple las funciones de reducir la velocidad de evaporación de la capa lagrimal acuosa, aumentar la tensión superficial, ayudar a la estabilidad de la película lagrimal y lubricar los párpados mientras estos se deslizan sobre la superficie del globo ocular (25,29).

Estudios recientes demostraron que la función antimicrobiana de los lípidos de la lágrima y los lípidos meibomianos puede fortalecer la defensa innata de la superficie ocular contra diferentes patógenos

ocasionando en estos alteración en la viabilidad celular, alteración en el fenotipo bacteriano y lisis celular (4,30,31); aunque esta función aún es discutida, algunos autores sugieren que en gran medida puede darse debido a la presencia de glicoproteínas que se intercalan entre la capa lipídica (28,30).

La caracterización del lipidoma lagrimal ha tenido gran importancia en la búsqueda de biomarcadores de alteraciones oculares como el ojo seco. Si bien varios estudios han demostrado la relevancia fisiológica de la organización y función de los lípidos en la lágrima, a tal punto que son objetivo de diversas investigaciones en el diagnóstico y manejo terapéutico, métodos bioquímicos como la cromatografía líquida de alta afinidad (HPLC), la espectrometría de masas (MS) en tándem y la RMN han permitido evaluar la cuantificación de ésteres de cera, los cambios estructurales y funcionales de los lípidos lagrimales y la organización de lípidos polares y apolares en el fluido lagrimal y en el *meibum* (7,28).

**Capa posterior muco-acuosa:** es una fusión entre las capas mucina y acuosa que fue descrita en el informe de fisiopatología del DEWS II, y que se definió como una capa gruesa compuesta, en su mayoría, por sales y proteínas; se origina en la glándula lagrimal, la conjuntiva y las glándulas de Meibomio. Dentro de esta capa se encuentran los factores de crecimiento epidérmico, transformante alfa y de hepatocitos, los cuales son esenciales para el mantenimiento del epitelio; en esta capa también se encuentran diferentes proteínas de defensa (lisozima, lipocalina, lactoferrina, proteína D tensioactiva y péptido trébol) involucradas en la inmunidad innata, así como la Inmunoglobulina A secretora que tiene como funciones lubricar, mantener la humectabilidad e interactuar directamente con el glicocalix en donde este se encuentre incompleto, como en el caso de las abrasiones (21,30,31).

Igualmente, se ha descrito la participación de factores de crecimiento en diferentes procesos celulares del sistema visual, por lo cual muchas investigaciones apuntan a evaluar los niveles de estos factores en alteraciones del segmento anterior como queratocono, ojo seco y patologías del polo posterior como retinopatías y glaucoma (32-37).

## Componentes del fluido lagrimal

Los factores de crecimiento epidérmico y el transformante son los principales componentes del fluido lagrimal, a continuación se describe cada uno de ellos:

Factor de crecimiento epidérmico: es un péptido que promueve el crecimiento, la multiplicación, la diferenciación y la supervivencia celular; está presente en plaquetas, macrófagos y fluidos como la orina, el plasma y la saliva, y su propósito es la reparación de las heridas y el mantenimiento, la integridad y la regeneración de tejidos, pues su alteración o función anómala da lugar a diversas enfermedades (38,39). Niveles reducidos en la expresión de este factor se han encontrado en la película lagrimal de pacientes con patologías como ojo seco y glaucoma, aspecto que podría explicar la débil cicatrización, protección y reparación en la superficie corneal y en las células ganglionares (37,38,40).

**Factor de crecimiento transformante  $\beta$ :** regula las actividades celulares como transformador e inhibidor de la proliferación de células epiteliales, endoteliales, linfoides, mieloides y malignas, también funciona como estimulador de la síntesis de proteínas de matriz extracelular (41).

De igual manera, dentro de los mecanismos de regulación epigenética, los miARN pueden regular la respuesta de la superficie ocular, tal como el caso de miARN143/145 que favorece la diferenciación y proliferación de células epiteliales corneales. Asimismo, en estudios de cultivo celular la represión de algunos miARN como miARN450b puede favorecer el desarrollo adecuado del epitelio corneal, lo cual contribuye a la homeostasis de la superficie ocular (42).

#### *Biomarcadores en lágrima en enfermedades oculares*

Gracias a la composición molecular del fluido lagrimal, se ha propuesto la presencia de ciertos biomarcadores, tanto para enfermedades oculares como sistémicas. Las ventajas que se han obtenido en la lágrima mediante la aplicación de disciplinas como la genómica, la transcriptoma, la proteoma, la metaboloma y la lipidoma son la identificación y expresión diferencial de diversas moléculas que juegan un papel importante en patologías oculares como ojo seco, conjuntivitis alérgica, glaucoma, queratocono y enfermedades sistémicas como diabetes, cáncer y neurodegeneración (36,43-46).

A lo largo del tiempo, las moléculas presentes en la lágrima han sido bastante estudiadas y se ha llegado a la conclusión de que este fluido, pese a su pequeño volumen, brinda información relevante de las estructuras oculares. Un reflejo de lo anterior es la caracterización e identificación que se ha hecho de los posibles biomarcadores para ojo seco con base en la información derivada del proteoma y el lipidoma lagrimal (21). Por

ejemplo, se ha sugerido una desregulación de proteínas con función inflamatoria y de defensa de la superficie ocular como S100A, lactoferrina, lisozima y lipocalina-1 (47,48). Asimismo, cambios en la expresión de mucinas y metaloproteinasas pueden estar alterados en la lágrima de individuos con ojo seco, cambios que contribuyen a una inestabilidad de la película lagrimal y al daño tisular corneal (49). De hecho, en el mercado se pueden encontrar pruebas rápidas para la detección de metaloproteinasa-9 (inmunoensayo cuyo nombre comercial es *inflammadry*) y mucina MUC51AC (detección por PCR), las cuales no solo han demostrado su importancia en el diagnóstico de alteraciones de la superficie ocular, sino que han sido empleadas como marcadores de seguimiento terapéutico (49).

En cuanto a los reguladores epigenéticos, Kim *et al.* (50) encontraron una baja expresión en los niveles de miR-16-5p, miR-34a-5p, miR-142-3p y miR-223-3p en muestras lagrimales de pacientes con síndrome de Sjogren respecto a los niveles de individuos sanos, por lo que se sugiere que estos miARN pueden jugar un papel importante en la patogénesis del ojo seco asociado a este síndrome. Por otro lado, Shi *et al.* (51) determinaron que el nivel de expresión de miR146a aumentó en individuos con ojo seco asociado a Sjogren y que estos niveles se correlacionaron con inflamación paratiroides y características clínicas de ojo seco. Con base en hallazgos relacionados con la regulación epigenética, Ohigashi *et al.* (52) indicaron que la terapia mediante liposomas acoplados a vitamina A que contienen siARN contra la proteína de choque térmico 47 (HSP47) (proteína asociada al desarrollo de fibrosis en la glándula lagrimal y por ende a una secreción lagrimal reducida) fue útil en modelos murino con ojo seco.

Los anteriores hallazgos permiten establecer que el uso de miARN como biomarcador para ojo seco es una estrategia de diagnóstico eficaz; cabe resaltar que, a nivel ocular, esta enfermedad es una de las más prevalentes alrededor del mundo y es el motivo de consulta más común en la práctica clínica, pues genera comorbilidades y afectación en la calidad de vida de quienes la padecen. Los nuevos aportes sobre la fisiopatogenia y posibles biomarcadores alientan a la posibilidad de una mejor terapéutica. Lo anterior cobra validez con el desarrollo de fármacos que inhiben la acción de las integrinas (lifitegrast) que favorecen el reclutamiento de leucocitos y contribuyen al proceso inflamatorio en la superficie ocular, lo que resulta en una mejoría significativa de la estabilidad de la película lagrimal y de la sintomatología clínica del ojo seco (53). Por otra parte,

recientemente se ha informado el desarrollo preclínico y clínico de pequeños ARN interferentes que inducen una represión en genes que favorecen el desarrollo del ojo seco como lo es el receptor del potencial transitorio V1 implicado en la inflamación y en la respuesta somatosensorial de la superficie ocular (54).

Los niveles de citoquinas como IL-4, IL-10 e IL-13 se encuentran elevados en la lágrima de los individuos con alergia ocular, lo que se asocia a la formación de papilas en el tarso conjuntival superior. No obstante, en condiciones como queratoconjuntivitis vernal se presenta un perfil proinflamatorio en la lágrima con niveles incrementados de citoquinas Th1 como IL-1, IL-2, IL-6, y TNF (55). Por otro lado, se ha descrito que las lágrimas de los individuos con alergia ocular presentan niveles elevados de moléculas como Inmunoglobulina E (IgE), histamina, triptasa, quinasa y sustancia P, y que estos niveles se reducen después de una terapia farmacológica, por lo que se sugiere que el fluido lagrimal brinda información no solo en el diagnóstico de la enfermedad, sino también de la respuesta farmacológica (56).

Estos descubrimientos moleculares han permitido realizar una adecuada terapéutica en individuos con conjuntivitis alérgica, siendo esta patología ocular de gran importancia clínica al ser un factor de riesgo para el desarrollo de queratocono y otras afecciones corneales. De esta forma, el mercado farmacéutico ha sugerido pruebas para la medición de moléculas implicadas en la patología con el objetivo de definir, de acuerdo a la presencia de estos marcadores en la lágrima, el posible tratamiento. Un claro ejemplo de lo anterior lo demuestra la compañía Advanced Tear Diagnostics, la cual ha diseñado un test basado en la técnica de ELISA para la detección de IgE en individuos con conjuntivitis alérgica aguda (57).

En análisis sobre retinopatía diabética, tanto en modelos animales como humanos, se ha encontrado que el fluido lagrimal puede brindar un aporte molecular y que la lipocalina 1, la proteína de choque térmico y la proteína  $\beta 2$  microglobulina son posibles biomarcadores de la retinopatía diabética, lo que evidencia cambios en los niveles de expresión en comparación con sujetos sanos (37). Por otra parte, mediante análisis por MS y HPLC, Nguyen-Khuong *et al.* (58) encontraron cambios en el perfil glicómico (N-glucomico y O-glucono) que se asociaron con la presencia de retinopatía diabética.

De la misma manera, se ha evidenciado que la lágrima puede ser útil en la búsqueda de biomarcadores de glaucoma cuando se estudia desde perspectivas clínicas, moleculares y celulares; al respecto hay que tener

en cuenta que, desde el punto de vista clínico, esta enfermedad se ha definido como un proceso neurodegenerativo que conduce a la apoptosis de células ganglionares y que se manifiesta por la pérdida de campo visual. Además, parte de su fisiopatología se asocia a cambios en los niveles del factor de crecimiento neural, el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) y el factor neurotrópico derivado del cerebro; el análisis en modelos animales también demuestra una participación del sistema inmunitario en el desarrollo y progresión de la enfermedad (59).

De esta forma, se han documentado niveles reducidos de los factores de crecimiento antes mencionados en individuos con glaucoma normotensional (60), además se han evaluado los niveles de estos factores tanto en humor acuoso como en fluido lagrimal, encontrando que el CTGF está presente en los dos fluidos en individuos con glaucoma pseudoexfoliativo (61). Otro reporte demuestra un cambio en la expresión de ciertas citoquinas y una sobrerregulación de anexina vinculante, esta última asociada a procesos apoptóticos y cambios en los niveles de expresión de moléculas como la lisozima y la proteína S100A (62).

La película lagrimal puede sufrir modificaciones en su composición molecular como respuesta a un proceso inflamatorio de la superficie ocular o a cambios en la homeostasis de la barrera hemato-acuosa y en la cámara anterior. Se ha considerado que en el glaucoma hay un daño oxidativo que conduce a un estrés celular (63), lo que favorece, por un lado, la liberación de especies reactivas de oxígeno como mieloperoxidasa y glutatión peroxidasa en plasma y en humor acuoso de individuos con glaucoma y, por el otro, la liberación de mediadores inflamatorios; lo anterior ha sido demostrado en muestras de humor acuoso de pacientes con glaucoma donde se evidencian niveles aumentados de citoquinas proinflamatorias como las IL-12, TNF, IL-6, entre otras.

La degeneración macular asociada a la edad (AMD) es la principal causa de ceguera en adultos mayores, siendo la edad el principal factor de riesgo; esta enfermedad conduce a una pérdida de visión central que limita la realización de actividades cotidianas. Winiarczyk *et al.* (64) analizaron muestras lagrimales de individuos con AMD tipo húmeda mediante MS y encontraron una sobre regulación de shootina-1, histatina-3, proteína similar a la fidgetina 1, inhibidor de la señalización de la quinasa, proteína portadora de la enfermedad de Graves, actina citoplasmática 1, proteína 1 inducible por prolactina y proteína S100-A7A, todas implicadas en la inflamación y neovascularización, y detectadas en humor acuoso en estudios previos (65).

### *Biomarcadores de enfermedades sistémicas en fluido lagrimal*

Como se mencionó antes, la lágrima proporciona grandes ventajas a la hora de buscar moléculas que desempeñan un papel importante en patologías oculares dada la mínima invasividad a la hora de recolectar la muestra; por tal motivo, diversos investigadores se han interesado en este fluido para buscar biomarcadores de enfermedades sistémicas. Un ejemplo de esto lo evidencia Pereira-Despaigne *et al.* (66), quienes han demostrado que la hemoglobina glicosilada es un biomarcador de diabetes; este también es un marcador del nivel de la glucosa en sangre que resulta útil en el diagnóstico y el seguimiento de la enfermedad. Sin embargo, es posible pensar que esta y otras moléculas que desempeñan un papel en la fisiopatología de la diabetes pueden estar sobrerreguladas o desreguladas en la película lagrimal (66). Dentro de las complicaciones de la diabetes se encuentra el desarrollo de retinopatía, nefropatía y neuropatía diabética; de esta última se conoce que la sustancia P (SP) juega un papel importante en la regulación de la respuesta nerviosa. Respecto a esto, Tummanapalli *et al.* (67) encontraron una correlación entre los niveles de SP en lágrimas de individuos diabéticos tipo 1, la puntuación total de neuropatía y la densidad de fibras nerviosas, lo que sugiere que los niveles de esta sustancia en el fluido lagrimal podrían funcionar como un biomarcador no invasivo de neuropatía diabética (67).

Por otra parte, el sistema nervioso regula gran parte de las funciones visuales y oculares, de tal manera que la interpretación de la imagen depende de la integridad de las áreas corticales primaria y de asociación, y otras regiones implicadas en la integración oculomotora. La enfermedad de Alzheimer es un proceso neurodegenerativo causado principalmente por el acúmulo de placas amiloides en áreas corticales y subcorticales y la modificación postraduccional que sufre la proteína Tau, la cual está implicada en la neuroinflamación que implica clínicamente la pérdida de funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria (68,69). Al respecto, Armstrong demostró que el sistema visual puede ser una ventana para el análisis del sistema nervioso y puede brindar información de la función neuronal (70).

Aunque varios estudios han demostrado que funciones visuales como la sensibilidad al contraste, la visión del color y la función visoperceptual se reducen en individuos con Alzheimer, no se ha encontrado una relación directa entre estos marcadores clínicos y el desarrollo de la enfermedad (71,72). Sin embargo, Kalló *et al.* (45)

encontraron cambios en el perfil de proteínas de lágrimas en este tipo de pacientes, lo que evidenció una sobrerregulación de la proteína lipocalina-2, la cual podría estar asociada con la neuroinflamación reportada en estos pacientes. Asimismo, aunque no se encuentran datos publicados, algunos investigadores reportaron en el congreso de ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) la presencia de péptido beta-amiloide y proteína Tau en lágrimas de individuos con Alzheimer y la presencia de la proteína  $\alpha$ -sinucleína implicada en el desarrollo y progresión del Parkinson (73).

Enfermedades como la esclerosis múltiple (74,75) y el cáncer de mama han condicionado cada vez más a la comunidad científica a la búsqueda de biomarcadores que permitan realizar un diagnóstico oportuno; en este punto las lágrimas se han considerado como un fluido que puede ser revelador sobre cambios en el genoma, la transcriptoma y el proteoma de un individuo para predecir distintos tipos de cáncer. En efecto, se han realizado estudios que sugieren cambios en la expresión de lacriglobina que pueden ser un potencial biomarcador en cáncer de mama; esto se ha apoyado con análisis bioinformáticos que revelaron la gran homología que comparte esta proteína con la proteína mammaglobina, la cual presenta un papel importante en el desarrollo de cáncer de mama (42,45,76).

En los últimos años, el ojo ha servido como modelo para estudiar diversos procesos celulares y extrapolar, en algunos casos, los resultados al funcionamiento de los sistemas neurológico, endocrino e inmunitario. Sin embargo, la película lagrimal ha sido la estructura y/o fluido que ha llamado más la atención para investigar. Este fluido, a diferencia de otros como la orina, la sangre y el líquido cefalorraquídeo, presenta la gran ventaja de que para su obtención hay una mínima invasividad, a pesar de las concentraciones de los componentes proteicos, lipídicos, etc., que son más bajas en comparación con las concentraciones en plasma. Asimismo, las lágrimas pueden ser evaluadas mediante técnicas moleculares y asociadas a procesos fisiopatológicos de estructuras próximas como el ojo y estructuras distales.

Las modificaciones biológicas que pueden sufrir las estructuras oculares es posible evaluarlas de manera indirecta mediante pruebas clínicas que de alguna manera indican el estado de la integridad tisular. No obstante, los análisis específicos de fenómenos que hacen parte del proceso fisiopatológico de la enfermedad cada vez toman más fuerza, de tal manera

que los investigadores, la industria farmacéutica y otros entes involucrados han puesto su mirada en el desarrollo de pruebas rápidas con mayor especificidad, repetibilidad, etc. Estas pruebas tienen como objetivos evaluar los biomarcadores en la lágrima y, con ello, definir el diagnóstico y establecer un seguimiento de la enfermedad. Un ejemplo de estas pruebas es el inflamadry, que es el primer detector de MMP-9, una proteasa que participa en el proceso inflamatorio de la superficie ocular. La identificación de esta proteasa es útil en la medida que se ha evidenciado que con tratamiento farmacoterapéutico los niveles de dicha enzima se reducen y la sintomatología clínica ocular disminuye (77,78).

Es de destacar que hoy día los mecanismos epigenéticos en la regulación génica han ganado gran importancia; por ejemplo, de manera especial se ha planteado que los ARN no codificantes podrían ser biomarcadores prometedores tanto de patología ocular como sistémica; asimismo, el proteoma y el lipidoma lagrimal pueden ser útiles en la detección de patologías que no solo comprometen la calidad óptica visual sino que pueden llegar a afectar la calidad de vida.

## Conclusión

Las investigaciones que se describen en esta revisión demuestran que los hallazgos moleculares que se presentan en el fluido lagrimal pueden llegar a ser unos biomarcadores prometedores que ampliarán los conocimientos en componentes celulares y moleculares que participan en enfermedades oculares y/o sistémicas; además, a través de dicha información será posible desarrollar estrategias terapéuticas y de diagnóstico para muchas de ellas.

### Conflicto de intereses

Ninguno declarado por los autores.

### Financiación

Ninguna declarada por los autores.

### Agradecimientos

Ninguno declarado por los autores.

## Referencias

1. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):276-83. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.008.
2. Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, Holopainen JM, Laurie GW, Millar TJ, et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):366-403. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.03.006.
3. Wilkinson BR. Dry eye syndrome. *Ophthalmology.* 1999;106(6):1044. DOI: 10.1016/S0161-6420(99)90278-6.
4. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, et al. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):438-510. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.011.
5. Dartt DA, Willcox MDP. Complexity of the tear film: Importance in homeostasis and dysfunction during disease. *Exp Eye Res.* 2013;117:1-3. DOI: 10.1016/j.exer.2013.10.008.
6. Esmaelpour M, Watts PO, Boulton ME, Cai J, Murphy PJ. Tear film volume and protein analysis in full-term newborn infants. *Cornea.* 2011;30(4):400-4. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3181f22cd9.
7. Lam SM, Tong L, Duan X, Petznick A, Wenk MR, Shui G. Extensive characterization of human tear fluid collected using different techniques unravels the presence of novel lipid amphiphiles. *J Lipid Res.* 2013;55(2):289-98. DOI: 10.1194/jlr.M044826.
8. Schicht M, Rausch F, Beron M, Jacobi C, Garreis F, Hartjen N, et al. Palate lung nasal clone (PLUNC), a novel protein of the tear film: Three-dimensional structure, immune activation, and Involvement in dry eye disease (DED). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(12):7312-23. DOI: 10.1167/iovs.15-17560.
9. Schicht M, Garreis F, Hartjen N, Beileke S, Jacobi C, Sahin A, et al. SFTA3 - A novel surfactant protein of the ocular surface and its role in corneal wound healing and tear film surface tension. *Sci Rep.* 2018;8(1):9791. DOI: 10.1038/s41598-018-28005-9.
10. Azkargorta M, Soria J, Acera A, Iloro I, Elortza F. Human tear proteomics and peptidomics in ophthalmology: Toward the translation of proteomic biomarkers into clinical practice. *J Proteomics.* 2017;150:359-67. DOI: 10.1016/j.jprot.2016.05.006.
11. Vicente-Herrero MT, Ramírez-Iñiguez de la Torre MV, Terradillos-García MJ, López González ÁA. Síndrome del ojo seco. Factores de riesgo laboral, valoración y prevención. *Semergen.* 2014;40(2):97-103. DOI: 10.1016/j.semerg.2013.05.003.
12. Farrand KF, Fridman M, Stillman IÖ, Schaumberg DA. Prevalence of Diagnosed Dry Eye Disease in the United States Among Adults Aged 18 Years and Older. *Am J Ophthalmol.* 2017;182:90-8. DOI: 10.1016/j.ajo.2017.06.033.



13. Alshamrani AA, Almousa AS, Almulhim AA, Alafaleq AA, Alosaimi MB, Alqahtani AM, et al. Prevalence and Risk Factors of Dry Eye Symptoms in a Saudi Arabian Population. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2017;24(2):67-73. DOI: 10.4103/meajo.MEAJO\_281\_16.
14. Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, De Saint Jean M, Goguel A, Baudouin C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(6):1356-63.
15. Sonobe H, Ogawa Y, Yamada K, Shimizu E, Uchino Y, Kamoi M, et al. A novel and innovative paper-based analytical device for assessing tear lactoferrin of dry eye patients. *Ocul Surf*. 2019;17(1):160-6. DOI: 10.1016/j.jtos.2018.11.001.
16. Zhao H, Li Q, Ye M, Yu J. Tear Luminex Analysis in Dry Eye Patients. *Med Sci Monit*. 2018;24:7595-602. DOI: 10.12659/MSM.912010.
17. Huang Z, Du CX, Pan XD. The use of in-strip digestion for fast proteomic analysis on tear fluid from dry eye patients. *PLoS ONE*. 2018;13(8):e0200702. DOI: 10.1371/journal.pone.0200702.
18. Leonardi A, Palmigiano A, Mazzola EA, Messina A, Milazzo EMS, Bortolotti M, et al. Identification of human tear fluid biomarkers in vernal keratoconjunctivitis using iTRAQ quantitative proteomics. *Allergy*. 2014;69(2):254-60. DOI: 10.1111/all.12331.
19. Jung JH, Ji YW, Hwang HS, Oh JW, Kim HC, Lee HK, et al. Proteomic analysis of human lacrimal and tear fluid in dry eye disease. *Sci Rep*. 2017;7(1):13363. DOI: 10.1038/s41598-017-13817-y.
20. Kukumberg P, Karlík M, Beňová-Liszeková D, Beňo M, Pechan T, Farkaš R. New perspectives in human tear analysis? *Neuro Endocrinol Lett*. 2015;36(3):185-6.
21. Versura P, Nanni P, Bavelloni A, Blalock WL, Piazzini M, Roda A, et al. Tear proteomics in evaporative dry eye disease. *Eye (Lond)*. 2010;24(8): p. 1396-402. DOI: 10.1038/eye.2010.7.
22. Boland C.R Non-coding RNA: It's Not Junk. *Dig Dis Sci*. 2017;62(5):1107-1109. DOI: 10.1007/s10620-017-4506-1.
23. Corso-Díaz X, Jaeger C, Chaitankar V, Swaroop A. Epigenetic control of gene regulation during development and disease: A view from the retina. *Prog Retin Eye Res*. 2018;65:1-27. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2018.03.002.
24. de Souza GA, Godoy LMF, Mann M. Identification of 491 proteins in the tear fluid proteome reveals a large number of proteases and protease inhibitors. *Genome Biology*. 2006 ;7(8):R72. DOI: 10.1186/gb-2006-7-8-R72.
25. Gillan WDH. Tear biochemistry: a review. *South African Ophthalmologist*. 2010;69(2):100-6. DOI: 10.4102/aveh.v69i2.126.
26. Aass C, Norheim I, Eriksen EF, Thorsby PM, Pepaj M. Single unit filter-aided method for fast proteomic analysis of tear fluid. *Anal Biochem*. 2015;480:1-5. DOI: 10.1016/j.ab.2015.04.002.
27. Wizert A, Iskander DR, Cwiklik L. Organization of lipids in the tear film: A molecular-level view. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e92461. DOI: 10.1371/journal.pone.0092461.
28. Estudio de la película lagrimal. In: *Prácticas Esenciales con Lentes Contacto*. 2013. p. 45-56.
29. Mudgil P. Antimicrobial role of human meibomian lipids at the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(11):7272-7. DOI: 10.1167/iovs.14-15512.
30. Cwiklik L. Tear film lipid layer: A molecular level view. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1858(10):2421-30. DOI: 10.1016/j.bbamem.2016.02.020
31. McDermott AM. Antimicrobial compounds in tears. *Exp Eye Res*. 2013;117:53-61. DOI: 10.1016/j.exer.2013.07.014.
32. Rao K, Farley WJ, Pflugfelder SC. Association between high tear epidermal growth factor levels and corneal subepithelial fibrosis in dry eye conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(2):844-9. DOI: 10.1167/iovs.09-3875.
33. Nishtala K, Pahuja N, Shetty R, Nuijts RMMA, Ghosh A. Tear biomarkers for keratoconus. *Eye Vis (Lond)*. 2016;3:19. DOI: 10.1186/s40662-016-0051-9.
34. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Taheri N, Ahoor MH.. Tear film inflammatory mediators in patients with keratoconus. *Int Ophthalmol*. 2015;35(4):467-472. DOI:10.1007/s10792-014-9971-3
35. Gupta VK, Chitranshi N, Gupta VB, Golzan M, Dheer Y, Vander Wall R, et al. Amyloid  $\beta$  accumulation and inner retinal degenerative changes in Alzheimer's disease transgenic mouse. *Neurosci Lett*. 2016;623:52-6. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.04.05.
36. Cicalini I, Rossi C, Pieragostino D, Agnifili L, Mastropasqua L, Di Iorio M, et al. Integrated lipidomics and metabolomics analysis of tears in multiple sclerosis: An insight into diagnostic potential of lacrimal fluid. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1265. DOI: 10.3390/ijms20061265.
37. Torok Z, Peto T, Csoos E, Tukacs E, Molnar A, Maros-Szabo Z, et al. Tear fluid proteomics multimarkers for diabetic retinopathy screening. *BMC Ophthalmology*. 2013;13(1):40. DOI: 10.1186/1471-2415-13-40.
38. Esquirol-Caussa J, Herrero-Vila E. Factor de crecimiento epidérmico, innovación y seguridad. *Medicina Clínica*. 2015;145(7):305-12.
39. Rocco ML, Soligo M, Manni L, Aloe L. Nerve Growth Factor: Early Studies and Recent Clinical Trials. *Curr Neuropharmacol*. 2018 16(10):1455-1465. DOI: 10.2174/1570159X16666180412092859.
40. Xiao X, He H, Lin Z, Luo P, He H, Zhou T, et al. Therapeutic effects of epidermal growth factor on benzalkonium chloride-induced dry eye in a mouse model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(1):191-7. DOI: 10.1167/iovs.11-8553.
41. Peralta-Zaragoza O, Lagunas-Martínez A, Madrid-Marina V. Factor de crecimiento transformante beta-1: estructura, función y mecanismos de regulación en cáncer. *Salud pública Méx*. 2001;43(4):340-51.

42. Rassi DM, De Paiva CS, Dias LC, Módulo CM, Adriano L, Fantucci MZ, et al. Review: MicroRNAs in ocular surface and dry eye diseases. *Ocul Surf.* 2017; 15(4):660-669. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.007.
43. Park KS, Kim SS, Kim JC, Kim HC, Im YS, Ahn CW, et al. Serum and tear levels of nerve growth factor in diabetic retinopathy patients. *Am J Ophthalmol.* 2008;145(3):432-7. DOI: 10.1016/j.ajo.2007.11.011.
44. Evans V, Vockler C, Friedlander M, Walsh B, Willcox MD. Lacryglobin in human tears, a potential marker for cancer. *Clin Exp Ophthalmol.* 2001;29(3):161-3. DOI: 10.1046/j.1442-9071.2001.00408.x.
45. Kalló G, Emri M, Varga Z, Ujhelyi B, Tozsér J, Csutak A, et al. Changes in the chemical barrier composition of tears in Alzheimer's disease reveal potential tear diagnostic biomarkers. *PLoS One.* 2016;11(6): e0158000. DOI: 10.1371/journal.pone.0158000.
46. Lebrecht A, Boehm D, Schmidt M, Koelbl H, Schwirz RL, Grus FH. Diagnosis of breast cancer by tear proteomic pattern. *Cancer Genomics Proteomics.* 2009;6(3):177-82.
47. Tong L, Lan W, Lim RR, Chaurasia SS. S100A proteins as molecular targets in the ocular surface inflammatory diseases. *Ocul Surf.* 2014;12(1):23-31. DOI: 10.1016/j.jtos.2013.10.001.
48. Li B, Sheng M, Li J, Yan G, Lin A, Li M, et al. Tear proteomic analysis of Sjögren syndrome patients with dry eye syndrome by two-dimensional-nano-liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Sci Rep.* 2014 4:5772. DOI: 10.1038/srep05772.
49. Argüeso P, Balam M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjögren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(4):1004-11.
50. Kim YJ, Yeon Y, Lee WJ, Shin YU, Cho H, Sung YK, et al. Comparison of microRNA expression in tears of normal subjects and Sjögren syndrome patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019 60(14):4889-4895. DOI: 10.1167/iops.19-27062.
51. Shi H, Zheng LY, Zhang P, Yu CQ. miR-146a and miR-155 expression in PBMCs from patients with Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med.* 2014 43(10):792-797. DOI:10.1111/jop.12187.
52. Ohigashi H, Hashimoto D, Hayase E, Takahashi S, Ara T, Yamakawa T, et al. Ocular instillation of Vitamin A-coupled liposomes containing HSP47 siRNA ameliorates dry eye syndrome in chronic GVHD. *Blood Adv.* 2019 3(7):1003-1010. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018028431.
53. Haber SL, Benson V, Buckway CJ, Gonzales JM, Romanet D, Scholes B. Lifitegrast: a novel drug for patients with dry eye disease. *Ther Adv Ophthalmol.* 2019;11:2515841419870366. DOI: 10.1177/2515841419870366.
54. Moreno-Montañés J, Bleau AM, Jimenez AI. Tivanisiran, a novel siRNA for the treatment of dry eye disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018;27(4):421-426. doi: 10.1080/13543784.2018.1457647.
55. Tai ELM, Loong LJ, Madhusudhan P, Ramli RR, Che Marina CH, Hussein A. Tear cytokine levels in allergic rhinitis without ocular symptoms. *Can J Ophthalmology.* 2019;54(5):635-639. DOI: 10.1016/j.jcjo.2018.12.003.
56. Martínez R, Acera A, Soria J, González N, Suárez T. Allergic mediators in tear from children with seasonal and perennial allergic conjunctivitis. Vol. 86, *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2011;86(6):187-92. DOI: 10.1016/j.oftal.2011.01.002.
57. Bowling E. Microassay system tests for two tear film biomarkers. *Optometry Times;* 2013 [citado 2020 Jun 03]. Disponible en: <https://www.optometrytimes.com/optometry/microassay-system-tests-two-tear-film-biomarkers>.
58. Nguyen-Khuong T, Everest-Dass AV, Kautto L, Zhao Z, Willcox MDP, Packer NH. Glycomic characterization of basal tears and changes with diabetes and diabetic retinopathy. *Glycobiology.* 2015;35(3):269-83. DOI: 10.1093/glycob/cwu108.
59. van Setten GB, Blalock TD, Grotendorst G, Schultz GS. Detection of connective tissue growth factor (CTGF) in human tear fluid: Preliminary results. *Acta Ophthalmol Scand.* 2003;81(1):51-3. DOI: 10.1034/j.1600-0420.2003.00001.x.
60. Ghaffariyeh A, Honaripisheh N, Shakiba Y, Puyan S, Chamacham T, Zahedi F, et al. Brain-derived neurotrophic factor in patients with normal-tension glaucoma. *Optometry.* 2009;80(11):635-8. DOI: 10.1016/j.optm.2008.09.014.
61. Can-Demirdöğen B, Koçan-Akçin C, Özge G, Mumcuoğlu T. Evaluation of tear and aqueous humor level, and genetic variants of connective tissue growth factor as biomarkers for early detection of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Exp Eye Res.* 2019;189:107837. DOI:10.1016/j.exer.2019.107837.
62. Pieragostino D, Agnifili L, Fasanella V, D'Aguanno S, Mastropasqua R, Di Ilio C, et al. Shotgun proteomics reveals specific modulated protein patterns in tears of patients with primary open angle glaucoma naïve to therapy. *Mol Biosyst.* 2013;9(6):1108-16. DOI: 10.1039/c3mb25463a.
63. Kimura A, Namekata K, Guo X, Noro T, Harada C, Harada T. Targeting Oxidative Stress for Treatment of Glaucoma and Optic Neuritis. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:2817252. DOI: 10.1155/2017/2817252.
64. Winiarczyk M, Kaarniranta K, Winiarczyk S, Adaszek Ł, Winiarczyk D, Mackiewicz J. Tear film proteome in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Expl Ophthalmol.* 2018;256(6):1127-1139. DOI: 10.1007/s00417-018-3984-y.
65. Crabb JW, Miyagi M, Gu X, Shadrach K, West KA, Sakaguchi H, et al. Drusen proteome analysis: An approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 ;99(23):14682-7. DOI: 10.1073/pnas.222551899.
66. Pereira-Despaigne OL, Palay-Despaigne MS, Rodríguez-Cascaret A, Neyra-Barros RM, Chia-Mena MdL. Hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes mellitus. *MEDI-SAN.* 2015;19(4):555-61.

67. Tummanapalli SS, Willcox MDP, Issar T, Yan A, Pisarcikova J, Kwai N, et al. Tear film substance P: A potential biomarker for diabetic peripheral neuropathy. *Ocul Surf*. 2019;17(4):690-698. DOI: 10.1016/j.jtos.2019.08.010.
68. Qiu C, Kivipelto M, von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin Neurosci*. 2009;11(2):111-28.
69. Šerý O, Povová J, Míšek I, Pešák L, Janout V. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: A review. *Folia Neuropathol*. 2013;51(1):1-9. DOI: 10.5114/fn.2013.34190.
70. Armstrong RA. Alzheimer's disease and the eye. *J Optom*. 2009;2(3):103-11. DOI: 10.3921/joptom.2009.103.
71. Lenoir H, Siéhoff É. Visual perceptual disorders in Alzheimer's disease. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil*. 2019;17(3):307-316. DOI: 10.1684/pnv.2019.0815.
72. Cunha JP, Moura-Coelho N, Proença RP, Dias-Santos A, Ferreira J, Louro C, et al. Alzheimer's disease: A review of its visual system neuropathology. Optical coherence tomography—a potential role as a study tool in vivo. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016;254(11):2079-92. DOI: 10.1007/s00417-016-3430-y.
73. Staff RO. Tear Biomarkers May Foretell Alzheimer's, Parkinson's. *Review of Optometry*; 2019 [citado 2020 Jun 03]. Disponible en: <https://url2.cl/Zc1sq>.
74. Rentka A, Harsfalvi J, Szucs G, Szekanecz Z, Szodoray P, Koroskenyi K, et al. Membrane array and multiplex bead analysis of tear cytokines in systemic sclerosis. *Immunol Res*. 2016;64(3):619-26. DOI: 10.1007/s12026-015-8763-9.
75. Rentka A, Hársfalvi J, Berta A, Köröskényi K, Szekanecz Z, Szücs G, et al. Vascular endothelial growth factor in tear samples of patients with systemic sclerosis. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:573681. DOI: 10.1155/2015/573681.
76. de Freitas-Campos C, Cole N, Van Dyk D, Walsh BJ, Diakos P, Almeida D, et al. Proteomic analysis of dog tears for potential cancer markers. Vol. 85, *Research in Veterinary Science*. 2008. p. 349-52.
77. Lanza NL, Valenzuela F, Perez VL, Galor A. The Matrix Metalloproteinase 9 Point-of-Care Test in Dry Eye. *Ocul Surf*. 2016;14(2):189-95. DOI: 10.1016/j.jtos.2015.10.004..
78. Sambursky R. Presence or absence of ocular surface inflammation directs clinical and therapeutic management of dry eye. *Clin Ophthalmol*. 2016;10:2337-43. DOI: 10.2147/OPTH.S121256.